

**STRATEGIES DE REPONSE FACE A UNE MENACE D'AGRESSION
METTANT EN ŒUVRE DES TOXINES**



GUIDE TOXINES

**ANNEXE AU VOLET BIOTOX
DU PLAN INTERMINISTERIEL DE REPONSE A UN ATTENTAT NRBC**



SEPTEMBRE 2010

SOMMAIRE

Fiches 1 : Stratégie de réponse

<u>Fiche 1.1</u>	Contexte, scénarios et stratégie de réponse	p 4
<u>Fiche 1.2</u>	Mesures de prévention primaire	p 11
	Tableau de synthèse des principales actions à mener	p 14
	Logigramme attentat non revendiqué	p 15
	Logigramme attentat revendiqué	p 16

Fiches 2 : Toxine Botulique

<u>Fiche 2.1</u>	Généralités	p 17
<u>Fiche 2.2</u>	Voies de contamination	p 19
<u>Fiche 2.3</u>	Clinique	p 21

Prise en charge des personnes exposées

Sur le lieu de l'attentat

<u>Fiche 2.4</u>	Prise en charge des personnes exposées par aérosolisation	p 24
<u>Fiche 2.5</u>	Prise en charge sur le lieu de l'attentat par voie alimentaire/hydrique	p 29

A domicile

<u>Fiche 2.6</u>	Prise en charge des personnes exposées	p 32
------------------	--	------

En établissement de santé

<u>Fiche 2.7</u>	Prise en charge des personnes exposées	p 36
------------------	--	------

Diagnostic – détection dans les aliments – emballage

<u>Fiche 2.8</u>	Diagnostic biologique	p 41
<u>Fiche 2.9</u>	Détection biologique dans des échantillons d'aliments	p 44
<u>Fiche 2.10</u>	Emballage des échantillons biologiques pouvant contenir des matières potentiellement infectieuses/dangereuses	p 47
<u>Fiche 2.11</u>	Thérapeutique	p 50

Fiches 3 : Ricine

<u>Fiche 3.1</u>	Généralités	p 51
<u>Fiche 3.2</u>	Voies de contamination	p 53
<u>Fiche 3.3</u>	Clinique	p 56

Prise en charge des personnes exposées

Sur le lieu de l'attentat

<u>Fiche 3.4</u>	Prise en charge des personnes exposées par aérosolisation	p 58
<u>Fiche 3.5</u>	Prise en charge sur le lieu de l'attentat par voie alimentaire/hydrique	p 63

A domicile

<u>Fiche 3.6</u>	Prise en charge des personnes exposées	p 66
------------------	--	------

En établissement de santé

<u>Fiche 3.7</u>	Prise en charge des personnes exposées	p 70
------------------	--	------

Diagnostic – détection dans les aliments – emballage

<u>Fiche 3.8</u>	Diagnostic biologique et détection dans l'environnement	p 74
<u>Fiche 3.9</u>	Emballage des échantillons biologiques pouvant contenir des matières potentiellement dangereuses	p 77
<u>Fiche 3.10</u>	Thérapeutique	p 79

Fiches 4 : Autres toxines

Fiche 4.1 :	Remarques d'ordre générale	p 80
Fiche 4.2 :	Généralités entérotoxine B du Staphylocoque	p 81
Fiche 4.3 :	Voies contamination entérotoxine B du Staphylocoque	p 83
Fiche 4.4 :	Généralités saxitoxine	p 85
Fiche 4.5 :	Voies de contamination saxitoxine	p 87
Fiche 4.6 :	Généralités sur la toxine epsilon	p 89
Tableau sur la prise en charge médicale et les thérapeutiques disponibles		p 91

Fiches 5 : Détection et décontamination environnementale

<u>Fiche 5.1 :</u>	Détection et décontamination environnementales – Introduction	p 94
<u>Fiche 5.2 :</u>	Conduite à tenir face à une suspicion d'attentat bioterroriste : fiche à l'attention des gestionnaires des établissements recevant du public	p 97
<u>Fiche 5.3 :</u>	Conduite à tenir face à une suspicion d'attentat bioterroriste : fiche à l'attention des gestionnaires de réseaux d'eau	p 101
<u>Fiche 5.4 :</u>	Conduite à tenir face à une suspicion d'attentat bioterroriste : fiche à l'attention des exploitants de chaîne de production agro-alimentaire	p 104
<u>Fiche 5.5 :</u>	Détection de confirmation : fiche à l'attention des équipes de prélèvement	p 106
<u>Fiche 5.6 :</u>	Détection de confirmation : fiche détection dans les échantillons d'eau	p 111
<u>Fiche 5.7 :</u>	Décontamination des lieux : définition de la zone de contamination	p 114
<u>Fiche 5.8 :</u>	Décontamination des lieux : Méthodes	p 117
<u>Fiche 5.9 :</u>	Décontamination des lieux : Réouverture d'un lieu après décontamination	p 122
<u>Fiche 5.10 :</u>	Décontamination : Traitement des effets personnels	p 124
<u>Fiche 5.11 :</u>	Décontamination des réseaux d'eau : Méthodes	p 126

Annexes

Annexe 1 : liste des laboratoires Biotox - Eau

Annexe 2 : fiche pratique – « eau de Javel »

Annexe 3 : Algorithme pratique pour la priorisation des sites à décontaminer

Annexes 4 à 7 : Guide d'investigation épidémiologique de l'institut de veille sanitaire

- Botulisme
- Ricine
- Saxitoxine
- Entérotoxine B Staphylococcique

Annexe 8 : Etat d'avancement des recherches de thérapies contre une intoxication à la ricine.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Fiche n°1.1</p>	<p>STRATEGIE DE REPONSE</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	------------------------------------	------------------------------

OBJECTIF

PRESENTATION GENERALE DE LA MENACE LIEE A L'UTILISATION DE TOXINES ET DE L'ORGANISATION DE LA REPONSE FACE A CETTE DERNIERE.

1. Fondamentaux

- Le terrorisme de nature biologique fait partie des menaces auxquelles il convient de se préparer – livre blanc du gouvernement sur le terrorisme -
- Il existe un corpus de textes constitué de directives, de recommandations, de mesures de précaution et de prévention visant à limiter, voire empêcher la réalisation d'actes de malveillance qui utiliseraient des agents biologiques. La déclinaison concrète au niveau local de ces outils représente une première étape incontournable d'un processus de préparation.
- En cas de menace avérée ou d'attentat biologique, le gouvernement dispose d'un plan gouvernemental d'intervention face aux menaces et actes de terrorisme nucléaire, radiologique, biologique et chimique (NRBC) avec son volet BIOTOX et ses 3 annexes opérationnelles pour les différents agents (Peste-Charbon-Tularémie, Variole et Toxines).
- La prise en compte de la menace biologique, de la veille jusqu'au retour à une situation normale autorisant la reprise de l'activité des sites et des infrastructures, en passant par la prise en charge des personnes exposées, place les structures sanitaires en première ligne de la réponse.
- En l'absence de certitude sur les agents incriminés lors d'une action par aérosolisation, les mesures de sécurité maximum devront être prises. Cependant, si la voie de contamination aérienne ne peut être exclue pour les toxines, les difficultés liées à la réalisation d'un aérosol efficace pour toucher un grand nombre de personnes ne font pas de cette voie d'attaque la plus plausible à court terme avec ce type d'agent.
- Deux toxines en particulier représentent un risque¹ élevé. Il s'agit de :
 - La toxine botulique produite par *Clostridium Botulinum* (toxine protéique bactérienne) ;
 - La ricine obtenue à partir des graines de ricin (toxine végétale).
- Sans prétendre à l'exhaustivité ce guide présente également des données sur d'autres toxines qui pourraient être utilisées dans des actes de malveillance :
 - L'entérotoxine B du staphylocoque
 - La toxine *Epsilon de Clostridium perfringens*
 - Les saxitoxines

2. Eléments de contexte : la menace liée aux toxines biologiques

Si la menace biologique liée aux toxines doit être prise en compte du fait de ses potentialités, les facteurs à maîtriser pour obtenir des effets significatifs nécessitent toutefois des connaissances approfondies en microbiologie, en physique des aérosols et des capacités à élaborer des scénarios d'attaque limitant les paramètres d'atténuation (importance de la dose ingérée/inhalée, rapide dégradation dans l'environnement sous une forme purifiée, ...).

Il convient donc de relativiser ce type de menace tout en se préparant à faire face à toute éventualité.

¹ Compte tenu de leurs caractéristiques et potentialités intrinsèques (à différencier de la notion de menace)

Ainsi si l'attentat par aérosol utilisant des toxines ne peut être totalement exclu pour des groupes terroristes pouvant avoir accès à des ressources importantes (savoir faire, moyens financiers, etc.), il apparaît, compte tenu des difficultés de réalisation, qu'une action malveillante mettant en œuvre des toxines risque plus vraisemblablement de se matérialiser à travers la contamination de produits alimentaires ou de réseaux d'eau (Si ce type de réalisation semble biologiquement et techniquement plus aisé, il est vraisemblable que les effets sanitaires restent très limités).

Enfin, il convient de noter que la réalisation d'un attentat avec une toxine biologique ou de la ricine, même si son impact en termes de nombre de victimes est finalement limité, provoquerait des perturbations sociales et économiques importantes qui impacteraient fortement le secteur sanitaire pendant et après la crise.

Il est donc nécessaire de s'y préparer par la mise en place des dispositifs et des procédures génériques et spécifiques de gestion de crise.

3. Stratégie de réponse

La stratégie de réponse à une menace terroriste est définie dans le plan « Pirate RNBC » (édition 2010 qui a réalisé une fusion des plans Piratome, Piratox et Biotox).

Ce dernier définit deux phases : la phase d'alerte et la phase d'intervention. Par ailleurs, dès que la nature de la menace ou de l'évènement est confirmée, des volets spécifiques sont déclinés : plan variole, guide peste-charbon-tularémie, guide toxines.

En pratique, les réponses à mettre en œuvre lors de ces deux phases doivent avoir fait l'objet d'une préparation en dehors de tout contexte de menace avérée.

La stratégie de réponse proposée pour faire face à une menace d'agression ou à une agression par des toxines peut donc être décrite d'une manière générale en deux phases :

- 1) L'alerte : cette phase est déclenchée dans un contexte de suspicion d'un attentat terroriste (à venir ou en cours de réalisation). Il s'agit de situations initiales où règne encore l'incertitude (à titre d'exemples : évènement avéré dont la nature malveillante reste incertaine, évènement bio-terroriste dans un pays étranger, éléments des services de renseignement entraînant le déclenchement d'une alerte...)
- 2) L'intervention : cette phase est déclenchée dans un contexte de confirmation d'un attentat terroriste (à titre d'exemples : agression caractérisée, confirmation d'une alerte...). A noter que l'entrée dans l'intervention peut être directe sans n'avoir jamais été précédée par la phase d'alerte :
 - Revendication d'un attentat sur un site recevant du public : salle de spectacle, établissement recevant du public (ERP), etc.
 - Détection par l'apparition de cas liés à la contamination d'un produit agroalimentaire, d'un réseau de distribution d'eau ;
 - Dispersion par aérosol d'une toxine : Toxine botulique – Ricine ;
 - Contamination, par contamination d'un buffet ou de l'eau consommée, de personnes présentes sur le lieu d'un évènement.

4. Voies de contamination et scénarios

Pour aider à dimensionner la réponse et prévoir les différentes actions, trois « vecteurs de contamination » (réseau d'eau, aliments et aérosolisation) peuvent être envisagés en cas d'attentat utilisant des toxines.

A. Les réseaux d'alimentation en eau potable

Un scénario possible concerne la contamination du système d'alimentation en eau potable. Cette contamination pourrait intervenir à différents niveaux :

- la source,
- le traitement,
- le stockage,
- la distribution (réseau).

Une contamination de la ressource ou lors d'une étape de traitement paraît toutefois peu vraisemblable en raison des quantités de toxines qu'il serait nécessaire d'utiliser. Par ailleurs, la résistance, toutefois modérée, des toxines aux oxydants classiquement utilisés pour le traitement de l'eau potable (chlore, bioxyde de chlore, ozone) ou leur élimination partielle lors des étapes de clarification (effet du chlorure ferrique) du fait de leur adsorption sur charbon actif, ne milite pas en faveur de ces scénarii de contamination. Il est en effet peu probable que des concentrations importantes de toxine puissent traverser l'étape de traitement et atteindre la distribution.

Dans le cas du réseau d'eau potable, le scénario de contamination pouvant se révéler le plus critique serait donc l'injection d'une toxine au niveau du stockage ou du réseau de distribution.

Dans ce type de scénario, le pourcentage de population affectée dépendrait nécessairement du réseau d'eau visée, du point d'introduction de l'agent de la menace ainsi que de l'heure et de la durée de l'injection (dans le cas d'une contamination directe de canalisations du réseau). Par ailleurs, la population impactée, en termes de personnes atteintes et de mortalité, sera fonction de nombreux paramètres : quantité de toxines inoculée, site d'inoculation dans le réseau, complexité ou maillage du réseau. A noter que la diffusion généralisée de la toxine dans le réseau est difficilement prévisible et étant donné qu'une faible proportion de l'eau utilisée est ingérée (20%), il n'est pas certain *in fine* qu'une telle opération atteigne un grand nombre de personnes.

Cependant, la répercussion médiatique avec affolement de la population, la mise en place d'une infrastructure de substitution d'approvisionnement en eau (interdiction d'utilisation de l'eau du robinet, distribution d'eau en bouteille ou par citerne...), et la décontamination du réseau entraîneraient de très lourdes perturbations.

B. L'alimentation (restauration collective – grande distribution)

En règle générale, le vecteur alimentaire correspond à la voie naturelle de contamination humaine par des toxines. Il convient toutefois de souligner encore une fois que la réalisation d'un attentat de grande ampleur nécessite la maîtrise de contraintes techniques et de paramètres importants pour l'obtention d'effets mesurables : quantité suffisante dans le produit final, accès à l'aliment, vecteur de diffusion alimentaire n'altérant pas la toxine choisie (conservation, préparation, etc.), consommation suffisante pour engendrer un effet mesurable et détectable, etc.

Ainsi, les deux grands types de scénario plausibles de contamination par l'alimentation sont :

1. contamination d'un buffet ou d'une buvette dans un lieu de passage ou dans un ERP ;
2. contamination d'un produit agroalimentaire qui serait ensuite distribué sur l'ensemble du territoire, voire à l'étranger ;
3. contamination de repas préparés dans des cuisines collectives et distribués sur plusieurs sites.

C. L'air (aérosolisation d'une toxine)

Les scénarios plausibles de contamination par aérosolisation dans un milieu clos ou ventilé peuvent se dérouler dans des situations et dans des lieux divers et variés. Cependant, si cette voie est souvent évoquée, sa réalisation suppose un procédé de dissémination de la toxine qui n'altère pas son activité. Or les toxines, et particulièrement les plus toxiques (notamment les toxines botuliques), sont relativement sensibles aux agents dénaturants comme la chaleur et les oxydants.

Ainsi, l'aérosolisation, compte tenu de sa complexité, n'est pas actuellement considérée comme le moyen de diffusion le plus probable pour un attentat ayant recours à des toxines.

On peut cependant retenir deux grands types de scénario :

1. Contamination d'une enceinte limitée recevant une population de taille modérée et bien identifiée par :

- Aérosolisation au sein d'un milieu clos tel qu'une salle de spectacle ;
- Diffusion dans l'air à partir d'un colis par exemple, dont l'ouverture entraînerait la libération des toxines.

2. Contamination d'une enceinte bien identifiée et de taille importante (gare, station de métro, aéroport, hôpital, centre commercial), recevant une population de passage par :

- Effraction d'une gaine de ventilation et injection de toxines qui seraient diffusées dans tout le système de ventilation ;
- Diffusion d'un aérosol dans une bouche d'aération d'un réseau souterrain (métro, RER,...).

D. Scénarios

Au global, et en croisant ces trois « voies de contamination » avec deux types d'attentat (revendiqué et non revendiqué), il est possible **de dégager des points clefs pour préparer le secteur sanitaire à gérer un évènement terroriste mettant en œuvre des toxines :**

	Attentat revendiqué	Attentat avec revendication tardive ou non revendiqué
Contamination d'un produit agro-alimentaire (aliments, bouteilles d'eau, etc.)	Scénario 1 (cf. ci-dessous)	Scénario 2 (cf. ci-dessous)
Contamination d'un réseau d'eau potable	Scénario 1	Scénario 2
Aérosolisation d'une Toxine	Scénario 1	Scénario 2
Revendication d'un attentat sans acte malveillant	Scénario 3 (cf. ci-dessous)	

▪ Scénario 1 – gérer la crise :

La revendication d'un attentat auprès des autorités est instantanée.

L'attentat concerne une population « captive » sur le lieu de l'attentat ou une population exposée parfaitement identifiable (ex : théâtre, nœud de transport, réseau d'eau, produit alimentaire...).

Points clefs de ce type de scénario :

- gestion des personnes exposées : filtrage, prise en charge, information ;
- vérification de la réalité de l'attentat à partir d'éléments tangibles (détection environnementale, diagnostic, etc.) ;
- mise en place d'un dispositif pré-hospitalier pour donner le temps à l'établissement de santé de s'organiser ;
- organisation dans la durée du dispositif hospitalier pour la prise en charge des cas ;
- gestion des « inquiets-bien-portants » (impliqués ou non) par les services hospitaliers ;
- communication de crise.

▪ Scénario 2 – détecter le caractère malveillant :

La revendication de l'attentat est tardive, voire absente. Ce scénario inclut le cas d'un attentat non matérialisé, à savoir une revendication imprécise quant au lieu et à la nature de l'attentat. Cela laisse le temps à toute ou partie de la population exposée de se disperser.

La connaissance de l'attentat bio-terroriste se fait a posteriori, soit par la découverte de cas humains, soit par sa revendication postérieure.

Points clefs de ce type de scénario :

- détection et caractérisation de l'évènement au travers des dispositifs de surveillance sanitaire (InVS, réseau national des laboratoires Biotox-Piratox, CNR, ...)
- détection précoce du « caractère malveillant » de l'évènement afin d'alerter les services de polices, la justice, les autorités, etc.
- détermination de la population exposée ;
- stratégie de communication ;
- gestion des personnes exposées : filtrage, prise en charge, information ;
- organisation dans la durée du dispositif hospitalier (gestion des « inquiets-bien-portants »).

▪ Scénario 3 – mettre en évidence la supercherie :

Une revendication d'attentat est faite auprès des autorités et de la presse sans acte malveillant. Ce scénario inclut le cas du chantage auprès des autorités gouvernementales.

Toute la difficulté dans ce type de situation va résider dans la capacité pour le système de sécurité sanitaire d'apporter la preuve qu'il s'agit d'un « canular » et/ou d'une attaque exclusivement médiatique. Dans le cas particulier d'un chantage, il sera nécessaire de mobiliser la chaîne de veille et d'alerte afin d'être en mesure de détecter un éventuel passage à l'acte non revendiqué.

Points clefs de ce type de scénario :

- détection et caractérisation de l'évènement au travers des dispositifs de surveillance sanitaire (InVS, réseau national des laboratoires Biotox-Piratox CNR, ...)
- stratégie de communication ;
- apporter la preuve de l'absence d'évènement par des éléments tangibles (détection environnementale,...) ;
- gestion des « inquiets-bien-portants » par les services hospitaliers.

Ces trois typologies de scénario sont données à titre indicatif. Il peut être nécessaire de développer des stratégies intermédiaires.

5. Le déclenchement du plan gouvernemental d'intervention face au terrorisme NRBC– volet biotox

En l'absence d'alerte des services spécialisés et sans revendication préalable, il est important de noter que le secteur sanitaire sera très certainement en première ligne pour détecter un évènement inhabituel, le caractériser et, le cas échéant, répercuter l'alerte vers les structures gouvernementales *ad hoc* (le déclenchement du plan gouvernemental d'intervention face aux menaces NRBC relevant de l'autorité du Premier ministre).

Il s'agira donc d'être en mesure de faire remonter très rapidement le signalement de l'apparition de cas inhabituels à travers un système de veille et d'alerte robuste et efficace.

Les résultats de l'enquête épidémiologique devraient ensuite permettre d'orienter les hypothèses quant au vecteur de contamination : alimentaire, hydrique ou aérien (diffusion d'un aérosol).

A ce titre il convient de sensibiliser les structures sanitaires sur le fait que toute apparition de cas groupés et/ou la survenue d'une pathologie particulièrement rare pouvant faire penser à des maladies liées à des toxines doivent immédiatement être signalées.

- Données sur les critères de signalement :

Diagnostic clinique de botulisme sans attendre la confirmation biologique, intoxication liée à la ricine, etc. Devant une simple suspicion, les médecins et/ou les biologistes doivent avoir le réflexe de signaler le cas au médecin inspecteur de santé publique territorialement compétent qui se chargera de le confirmer, si nécessaire avec l'aide de l'InVS.

Particularités en cas de survenue de cas évocateurs d'une origine malveillante :

Botulisme	Ricine
Scénarios pouvant faire évoquer une origine malveillante (nota bene : ces scénarios n'excluent pas une origine naturelle mais doivent particulièrement attirer l'attention) :	Scénario pouvant faire évoquer une origine malveillante (nota bene : ce scénario n'exclut pas une origine naturelle mais doit particulièrement attirer l'attention) :
1. survenue concomitante ou groupée géographiquement de plusieurs cas présentant des signes d'atteinte neurologique compatibles avec un botulisme ;	1. survenue d'un cas (s'il est détecté par le secteur sanitaire) ou de plusieurs cas groupés présentant un syndrome gastro-entérique sévère brutal lié à une intoxication à la ricine.
2. implication dans la survenue des cas, d'un type inhabituel en France de toxine botulique (A, E, C, D, F, G) ;	(l'incidence de cas d'intoxication à la ricine en France étant quasi nulle, la seule apparition d'un cas, pour lequel on a la confirmation biologique que l'agent causale est la ricine, doit faire évoquer une possible origine malveillante).
3. survenue de plusieurs cas de botulisme pour lesquels aucune exposition alimentaire « classique » commune n'est retrouvée, présentant en revanche des caractéristiques communes d'exposition géographique (ex : aéroport, lieu de travail, lieu d'habitation).	

Remontée de l'alerte : après avoir validé les informations du déclarant, le médecin inspecteur de santé publique doit faire remonter ce signalement sans délai à l'InVS et au ministère de la santé (via le Centre Opérationnel de Réception et de Régulation des Urgences Sanitaires et Sociales – CORRUSS – du département des urgences sanitaires à la DGS). Après avis de l'InVS, le ministère de la santé, en cas de suspicion d'une origine malveillante, informe les cabinets du Premier ministre, du ministre de l'intérieur (le cas échéant les autres ministères concernés) et le SGDSN. Si l'évaluation de la situation l'exige, il propose également de déclencher le volet biotox du plan « NRBC ».

6. Références

Livre blanc du gouvernement sur le terrorisme ;

Plan gouvernemental d'intervention face aux menaces et actes de terrorisme RNBC, édition 2009 ;

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86 ;

Arnon SS, Scechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Fine AE. Botulium Toxin as a Biological Weapon : medical and public health management. JAMA. 2001;285 (8):1059-1070;

Guides d'investigation épidémiologique de l'InVS sur le botulisme, la ricine, l'entérotoxine B du Staphylocoque, la toxine diphtérique et les saxitoxines.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Fiche n°1.2</p>	<p>MESURES DE PREVENTION PRIMAIRE</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	--	------------------------------

OBJECTIF

PRESENTATION DU CADRE REGLEMENTAIRE ET DES GUIDES DONT L'OBJECTIF ET DE LIMITER VOIRE D'EMPECHER LA REALISATION D'UN ATTENTAT

1. Fondamentaux

- Le terrorisme de nature biologique fait partie des menaces auxquelles il convient de se préparer – livre blanc du gouvernement sur le terrorisme -
- Il existe un corpus de textes constitué de directives, de recommandations, de mesures de précaution et de prévention visant à limiter, voire empêcher la réalisation d'actes de malveillance qui utiliseraient des agents biologiques. La déclinaison concrète au niveau local de ces outils représente une première étape incontournable d'un processus de préparation.
- En cas de menace avérée ou d'attentat biologique, le gouvernement dispose d'un plan gouvernemental d'intervention face aux menaces et actes de terrorisme nucléaire, radiologique, biologique et chimique (NRBC) avec son volet BIOTOX et ses 3 annexes opérationnelles pour les différents agents (Peste-Charbon-Tularémie, Variole et Toxines).
- La prise en compte de la menace biologique, de la veille jusqu'au retour à une situation normale autorisant la reprise de l'activité des sites et des infrastructures, en passant par la prise en charge des personnes exposées, place les structures sanitaires en première ligne de la réponse.
- En l'absence de certitude sur les agents incriminés lors d'une action par aérosolisation, les mesures de sécurité maximales devront être prises. Cependant, si la voie de contamination aérienne ne peut être exclue pour les toxines, les difficultés liées à la réalisation d'un aérosol efficace pour toucher un grand nombre de personnes ne font pas de cette voie d'attaque la plus plausible à court terme avec ce type d'agent.
- Deux toxines en particulier représentent un risque² élevé. Il s'agit de :
 - La toxine botulique produite par *Clostridium botulinum* (toxine protéique bactérienne) ;
 - La ricine obtenue à partir des graines de ricin (toxine végétale).

2. Encadrement des conditions de détention et de cession des agents de la menace

Afin de prévenir ou tout au moins de détecter le plus précocement possible tout détournement au sein des laboratoires, la toxine botulique, *Clostridium botulinum*, et la ricine font partie des agents biologiques dont les conditions de mise en œuvre, de détention, d'importation, d'exportation et de cession sont strictement encadrées.

Ainsi, toute structure en France amenée à manipuler ce type d'agent doit posséder une autorisation de détention délivrée par l'Afssaps (Décret Micro-organismes et toxines hautement pathogènes – MOT).

Concernant la ricine, cette toxine étant également listée au tableau 1 de la convention d'interdiction des armes chimiques, sa manipulation nécessite également une autorisation du Haut fonctionnaire de sécurité et de défense du ministère de l'économie (Arrêté du 08 mars 2001 modifié définissant les conditions d'élaboration des autorisations prévues par le décret

² Compte tenu de leurs caractéristiques et potentialités intrinsèques (à différencier de la notion de menace)

n°2001-143 du 15 février 2001 concernant la mise en œuvre des dispositions du titre II de la loi n°98-467 du 17 juin 1998 relative à l'application de la convention du 13 janvier 1993 sur l'interdiction de la mise au point, de la fabrication, du stockage et de l'emploi des armes chimiques et sur leur destruction).

3. Mesures de prévention, de protection et de surveillance :

- Appliquées aux réseaux d'eau : deux circulaires ont été prises conjointement par les ministères chargés de la santé et de l'environnement :

1. Circulaire DGS n°2001/487/DE du 11 octobre 2001 relative au renforcement des mesures de protection des installations de production et distribution d'eau destinée à la consommation humaine dans le cadre du plan VIGIPIRATE renforcé.

2. Circulaire DGS n°2002/623/DE du 23 décembre 2002 relative à la prorogation des mesures de protection des installations de production et distribution d'eau destinée à la consommation humaine dans le cadre du plan VIGIPIRATE renforcé.

Ces circulaires, diffusées aux préfets et aux exploitants de système d'alimentation en eau potable ainsi qu'aux responsables d'usine d'embouteillage, portent sur le renforcement des mesures de protection des réseaux de distribution d'eau destinée à la consommation humaine. Peuvent être distinguées :

- des mesures générales de protection des installations : surveillance, sécurisation des accès, capacités d'intervention, dispositifs anti intrusions, etc ;
- une mesure spécifique vis à vis de la toxine botulique : cette mesure, qui ne s'applique pas aux unités d'embouteillage, porte sur une surchloration de l'eau (concentration minimale en chlore libre résiduel à garantir : 0,3 mg/L en sortie des réservoirs et 0,1 mg/L en tout point du réseau de distribution).
- des mesures organisationnelles non spécifiques: l'actualisation des plans de secours spécialisés « eau ».

En raison de l'adoption le 17 mars 2003 par le gouvernement du nouveau plan vigipirate décliné par codes couleurs, certaines des mesures rappelées par les circulaires citées précédemment ne sont plus demandées pour toutes les couleurs du plan Vigipirate.

En raison de l'augmentation prescrites des teneurs en chlore, une circulaire (DGS/SD5A/SD7A-DHOS/E4/O1 n° 2001-518 du 29 octobre 2001) relative au renforcement des mesures de vigilance en matière de production et traitement d'eau destinée à l'hémodialyse, dans le cadre du plan VIGIPIRATE renforcé, a été diffusée aux responsables des établissements de santé, des centres de dialyse, des unités d'autodialyse et des associations de dialyse à domicile.

- Appliquées aux installations de distribution de l'air : des dispositions spécifiques de prévention et de protection à mettre en œuvre dans certains établissements recevant du public, de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie ont été définies par la circulaire DGS/DGUHC/DDSC n°14 du 7 mars 2003 relative aux actions de prévention et de protection des installations de distribution de l'air dans les établissements recevant du public face à une contamination intentionnelle ou accidentelle de nature chimique ou biologique. Elle ne vise que les établissements dotés d'un circuit de ventilation et de traitement de l'air en raison de leur plus grande vulnérabilité (accessibilité fréquente des prises d'air neuf, diffusion rapide et large de la contamination).

Ces mesures portent sur la réalisation d'un état des lieux du système de traitement d'air et des installations de ventilation, l'évaluation des points critiques et la mise en place de consignes de sécurité à des fins d'intervention rapide en cas d'acte de malveillance (arrêt de la ventilation, isolement de zone).

- Appliquées au secteur alimentaire : des dispositions réglementaires européennes, d'application progressive de 2002 à 2006, communément appelée « le paquet hygiène », définissent un cadre général visant à prévenir et contrôler les risques de contamination accidentelle pour le secteur alimentaire. Ces mesures constituent une base de posture permanente de sécurité envers une contamination intentionnelle. Des mesures plus spécifiques contre les actions malveillantes peuvent être mises en œuvre par les exploitants du secteur dans une démarche volontaire et personnalisée. Un guide d'aide à la préparation de cette démarche a été préparé en interministériel et mis sur le site du ministère de l'agriculture, de même qu'un guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire.

4. Références

Livre blanc du gouvernement sur le terrorisme ;

Plan gouvernemental d'intervention face aux menaces et actes de terrorisme RNBC, édition 2009 ;

Décret n°2010-736 du 30 juin 2010 relatif aux micro-organismes et toxines.

Arrêté du 08 mars 2001 modifié définissant les conditions d'élaboration des autorisations prévues par le décret n°2001-143 du 15 février 2001 concernant la mise en œuvre des dispositions du titre II de la loi n°98-467 du 17 juin 1998 relative à l'application de la convention du 13 janvier 1993 sur l'interdiction de la mise au point, de la fabrication, du stockage et de l'emploi des armes chimiques et sur leur destruction ;

Circulaire DGS n°2001/487/DE du 11 octobre 2001 et n°2002/623/DE du 23 décembre 2002 relatives au renforcement des mesures de protection des installations de production et distribution d'eau destinée à la consommation humaine dans le cadre du plan VIGIPIRATE renforcé ;

Circulaire DGS/SD5A/SD7A-DHOS/E4/O1 n° 2001-518 du 29 octobre 2001 relative au renforcement des mesures de vigilance en matière de production et traitement d'eau destinée à l'hémodialyse, dans le cadre du plan VIGIPIRATE renforcé ;

Circulaire DGS/DGUHC/DDSC n°114 du 7 mars 2003 relative aux actions de prévention et de protection des installations de distribution de l'air dans les établissements recevant du public face à une contamination intentionnelle ou accidentelle de nature chimique ou biologique ;

« Paquet hygiène » composé du Règlement CE 178/2002 (Food Law), complété des règlements 852/2004 et 853/2004 et 183/2005 relatifs aux règles d'hygiène pour les denrées alimentaires et pour l'alimentation animale, ainsi que des règlements 882/2004 et 854/2004 sur l'organisation des contrôles officiels et l'agrément des établissements agro alimentaires.

Guide des recommandations pour la protection de la chaîne alimentaire contre les risques d'actions malveillantes, criminelles ou terroristes (mai 2007) ;

Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié.

**PRINCIPALES ACTIONS A MENER DANS LE CADRE DU GUIDE TOXINES
EN FONCTION DU NIVEAU D'ALERTE**

Niveau du plan biotox	Actions à mener	Responsable de l'action
Préparation Hors tout contexte de menace	Sensibilisation des médecins au diagnostic clinique du botulisme, d'une intoxication liée à la ricine ou à d'autres toxines et à l'obligation du signalement en urgence des cas suspects	Niveau national - DGS / InVS
	Organisation d'un réseau de laboratoires hospitaliers d'analyses biologiques P3	Niveau national – DGS / DGOS
	Recensement au niveau départemental, régional, zonal et national des capacités d'hospitalisation en soins continus et en réanimation pour les secteurs adultes et enfants, ainsi qu'un état des lieux du parc de respirateurs	Niveau national - DGS / DGOS Niveau Zonal Niveau Régional
	Constitution d'un stock national de contre-mesures médicales	Niveau national DGS / EPRUS / AFSSAPS
	Organisation d'un réseau de laboratoires pour la détection environnementale	Niveau national SGDSN / Intérieur / Santé
	Recensement de sociétés pour la décontamination environnementale	Niveau national Niveau Zonal
	Identification d'établissements de santé dédiés	Niveau Zonal, régional et départemental Plans blancs élargis
	ERP (1 ^{ère} et 2 ^{ème} catégorie) : Etat des lieux, vulnérabilité, mesures de sécurité sur les circuits de ventilation et traitements de l'air	Niveau départemental Préfecture / responsables d'ERP
	Réseau d'eau potable : Etude des vulnérabilités et adaptation des mesures de sécurité	Niveau départemental Préfecture / personnes responsables de la production et de la distribution d'eau
	Organisation d'une filière de prise en charge au sein des établissements de santé	Niveau local Plan blanc des établissements de santé
	Organisation du transport des échantillons biologiques en urgence	Niveau local Etablissements de santé
Pré alerte	Communication grand public	Niveau national
	Communication aux professionnels concernés	Niveau national - DGS/DGOS
	Vérification des capacités de prise en charge : respirateurs, lits de réanimation, lits de réveil, etc. Etat des stocks des contre-mesures médicales et acheminement vers les sites identifiés	Niveau national – DGS / DGOS Niveau zonal - Préfecture de zone / ARS de zone Niveau local
Alerte	Déclaration du cas au niveau international EWRS, OMS, GHSAG et Bichat	Niveau national – InVS / Ministère de la Santé
	Enquête épidémiologique	Niveau départemental/régional/national ARS / CIRE / InVS
	Activation de la filière de soins spécifique établissements de santé	Niveau régional - ARS
	Mise à disposition des produits de santé des stocks nationaux	Niveau national, zonal et départemental DGS / EPRUS / ARS
	Priorisation des sites à traiter pour les laboratoires d'analyses et sociétés de décontamination	Niveau départemental Préfecture / ARS

Attentat non revendiqué

EAU

AIR

ALIMENT

Apparition des symptômes et/ou confirmation biologique

En l'absence d'élément tangible (renseignement policier, etc.) permettant d'affirmer d'emblée qu'il s'agit d'un acte malveillant, la stratégie de réponse sera avant tout une approche épidémiologique classique :

- Prise en charge des cas – Fiches n°2.3 ; 3.3 ; 2.11 ; 3.10
- Recherche de la source – Fiches n°2.8 ; 2.9 ; 3.8 ; 5.2 ; 5.3 ; 5.4
- En fonction des éléments trouvés au travers de l'enquête épidémiologique et des analyses de laboratoires, détermination de la population potentiellement/réellement exposée – Fiches n°2.6 ; 2.7 ; 3.6 ; 3.7 ;
- Suspicion d'acte malveillant : mise en alerte des services de sécurité et des structures intergouvernementales de réponse – Fiche n°1.1
- Préparation du dispositif hospitalier de réponse – Fiche n°2.7 ; 3.7

- Mesures visant à arrêter l'exposition – Fiche n°5.3 ;
- Mise en place des actions de réhabilitation du site touché – Fiche n°5.11

- Mesures visant à arrêter l'exposition – Fiche n°5.2 ;
- Mise en place des actions de réhabilitation du site touché – Fiches n°5.7 ; 5.8 ; 5.9

- Mesures visant à arrêter l'exposition – Fiche n°5.4 ;
- Mise en place des actions de réhabilitation du site touché

- Préparation du déploiement des contre-mesures médicales
- Prise en charge des personnes exposées – Fiches n°2.7 ; 2.8

Attentat revendiqué

EAU

AIR

ALIMENT

En l'absence de cas confirmé et/ou d'élément tangible (renseignement policier, etc.) permettant d'affirmer d'emblée que tel ou tel agent biologique a été employé, la stratégie de réponse se basera sur le scénario le plus pénalisant :

- Détermination de la population « potentiellement exposée » sur la base des éléments de la revendication – Fiches n°1.1 ; 5.2 ; 5.3 ; 5.4 ;
- Vérification de la réalité de l'attentat : prélèvement biologique, prélèvement environnementaux en lien avec les éléments de l'enquête épidémiologique et/ou policière- Fiche n°5.5 ;
- Si non connue, recherche active de la source de contamination
- En l'absence de cas, mise en place d'un recensement et d'un suivi des personnes potentiellement exposées ; évolution de ce recensement en fonction de données nouvelles qui seront apportées par les analyses, la détermination de la source, etc. - Fiches n°2.4 ; 2.5 ; 2.6 ; 3.4 ; 3.5 ; 3.6 ;
- Préparer le dispositif hospitalier de réponse - Fiches n°2.7 ; 3.7 ;

Préparation du déploiement des contre-mesures médicales

Apparition des symptômes et/ou confirmation biologique

- Prise en charge des personnes exposées – Fiches n°2.4 ; 2.5 ; 2.6 ; 2.7 ; 3.4 ; 3.5 ; 3.6 ; 3.7 ;
- Finalisation de l'enquête épidémiologique et/ou policière pour déterminer précisément la taille de la population potentiellement exposée ;
- Confirmation biologique environnementale et détermination précise de la population

- Mesures visant à arrêter l'exposition – Fiche n°5.3 ;
- Mise en place des actions de réhabilitation du site touché – Fiche n°5.11

- Mesures visant à arrêter l'exposition – Fiche n°5.2 ;
- Mise en place des actions de réhabilitation du site touché – Fiches n°5.7 ; 5.8 ; 5.9

- Mesures visant à arrêter l'exposition – Fiche n°5.4 ;
- Mise en place des actions de réhabilitation du site touché

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxine Botulique</p> <p>Fiche n°2.1</p>	<p>GENERALITES</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	---------------------------	----------------------------------

OBJECTIF

RAPPELER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA MENACE LIEE A LA TOXINE BOTULIQUE.

1. Fondamentaux

Généralités sur le botulisme³

- Affection neurologique commune à l'homme et aux animaux
- D'origine le plus souvent alimentaire, dans les formes naturelles de la maladie
- Dû à des bactéries anaérobies du genre *Clostridium* sécréteurs de neurotoxines botuliques (types A,B,C,D, E,F et G) et regroupées au sein des espèces *Clostridium botulinum* et plus accessoirement *Clostridium butyricum* et *Clostridium baratii*
- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour

Généralités sur les *Clostridium* neurotoxinogènes

- Bacilles à Gram positif, anaérobies stricts et sporulés
- Habitat principal : l'environnement (spores présentes dans le sol, l'eau et les sédiments aquatiques du monde entier)
- Forme sporulée résistante à des conditions extrêmes (chaleur, sécheresse, oxygène, agents chimiques) permettant une survie pendant de très longues périodes pouvant atteindre plusieurs siècles
- Germination des spores et division bactérienne en conditions anaérobies et en présence suffisante de nutriments
- Rôle pathogène lié à la présence d'une toxine dont il existe 7 sérotypes (de A à G)
- Toxine B : forme la plus fréquemment rencontrée en France

Mode d'action des neurotoxines botuliques

- Ingestion de la toxine ou production in vivo puis passage par transcytose d'une muqueuse (le plus fréquemment à partir de la lumière intestinale)
- Diffusion dans l'organisme par la circulation sanguine et lymphatique (d'où le diagnostic biologique possible chez l'homme par mise en évidence de la neurotoxine dans le sérum et l'intérêt d'un prélèvement précoce avant mise en place d'un traitement spécifique)
- Cibles des neurotoxines : les jonctions neuromusculaires où elles sont responsables d'une inhibition de la libération de l'acétylcholine, ce qui se traduit cliniquement par une paralysie motrice flasque, symétrique, progressive et descendante

Toxicité des neurotoxines botuliques

- La toxine A est la plus toxique (4 fois plus toxique que la toxine tétanique, 300 fois plus que la toxine diphtérique, 30000 fois plus que la ricine et 1011 que le cyanure de sodium) ;
- Toxines des types A, B, E et dans de rares cas F à l'origine de la maladie chez l'homme ;

³ Le mot botulisme vient du latin « botulus » qui signifie saucisse

- Toxine de type G : quelques cas ont été décrits en Suisse associant des décès brutaux avec une identification de la toxine botulique de sérotype G sans qu'un lien de causalité ait été établi ;
- Toxines de types C et D à l'origine de manifestations pathologiques chez l'animal et de rares cas décrits chez l'homme ;
- Dose létale minimale chez l'homme : 1µg/kg par voie orale (donnée pour la toxine A extrapolée à partir d'études chez le primate et les rongeurs).

Inactivation et Destruction

- Inactivation de la toxine au cours de la cuisson à une température de 100°C pendant 10 minutes et ceci quelle que soit la matrice
- Spores très résistantes à la chaleur et inactivation nécessitant une exposition à une température de 120°C (Chaleur humide, exemple : dans les autoclaves ou autocuiseurs)
- Dégradation de la toxine par les produits de désinfection de l'eau (en particulier, chlore).

2. Références

Abrutyn E. Botulisme. In : Harrison TR. Principes de Médecine Interne 14 ed française, Flammarion Médecine-Sciences, Paris 2000 ; 1046-1049

Popoff M.R. La menace terroriste liée à la toxine botulique. In : Menace terroriste, Approche médicale, John Libbey Eurotext, 2006 ; page 255-265

Bland S, Sédallian A, Dubreuil Luc. *Clostridium* autres que *C. Difficile*. In : Précis de bactériologie clinique, Editions ESKA 2000, page 1569-1576

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

CDC. Botulism in the United States, 1899 - 1996: handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 1998. Disponible sur <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/files/botulism.pdf>

Bossi P, Tegnell A, Baka A, Van Loock F, Hendriks J, Werner A, Maidhof H, Gouvras G. Bichat guidelines for the clinical management of botulism and bioterrorism-related botulism. Eurosurveillance, 2004 Dec, 9 (12). Disponible sur <http://www.eurosurveillance.org/em/v09n12/0912-236.asp>

Bigalke H, Rummel A. Medical aspects of toxin weapons. Elsevier, Toxicology 214 (2005), 210-220

Afssa. Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine, octobre 2002. Disponible sur <http://www.afssa.fr/ftp/basedoc/Botulismefinal25nov2002.pdf>

GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.2	VOIES DE CONTAMINATION	Septembre 2010
--	-------------------------------	-----------------------

OBJECTIF

PRESENTER LES DIFFERENTES VOIES DE CONTAMINATION POSSIBLES QU'ELLES SOIENT D'ORIGINE NATURELLE OU MALVEILLANTE.

1. Fondamentaux

L'habitat principal des *Clostridium* neurotoxinogènes est l'environnement. Grâce à leurs spores qui résistent aux conditions extrêmes (chaleur, sécheresse, radiation, oxygène, agents chimiques), ces bactéries sont capables de survivre pendant de très longues périodes.

Cependant la germination des spores et la division bactérienne n'a lieu qu'en anaérobiose et en présence de suffisamment de nutriments (matières organiques).

L'habitat principal de *Clostridium botulinum* A, B, E, F et G est le sol, l'eau et les sédiments aquatiques du monde entier (sédiments marins et d'eau douce). *Clostridium botulinum* B est le plus fréquent en Europe.

Clostridium botulinum C et D ont une température optimale de croissance élevée (entre 30° et 40°) et sont exigeants en matière organique. Ils sont retrouvés dans les pays chauds.

2. Voies de contamination

Le botulisme humain est dû aux neurotoxines de type A, B et E produites par *Clostridium botulinum* et par *Clostridium butyricum* et exceptionnellement aux types C et F.

On distingue plusieurs formes de botulisme selon le mode de contamination :

Modes de transmission dans les formes naturelles

- Par l'alimentation lors de l'ingestion de toxine préformée au niveau d'aliments contaminés par *Clostridium botulinum* (souvent aliments de préparation familiale : jambons, charcuterie, conserves de légumes, fromages à pâte molle...). C'est la cause la plus fréquente de botulisme chez l'adulte. Dose létale minimale chez l'homme : 1 µg/kg par voie orale.
- Par effraction cutanée (blessure) résultant de l'action de pénétration de la toxine produite au niveau d'une plaie contaminée par *Clostridium botulinum*. Les plaies anfractueuses, profondes et avec une faible ouverture à l'extérieur sont favorables au développement de ces bactéries. La contamination peut se faire également par injection.
- Par colonisation résultant de l'ingestion de spores et de la production de toxine dans l'intestin des jeunes enfants de moins de 1 an et dans quelques cas chez des enfants âgés de plus de 1 an et des adultes. Pour ces derniers cas, exceptionnels, le mode de contamination est un diagnostic d'élimination.
- Par inhalation d'une forme aérosolisée. La neurotoxine est capable de traverser la barrière des cellules épithéliales pulmonaires. La voie aérienne n'a été impliquée que dans de très rares cas naturels de botulisme humain (personnels de laboratoire vétérinaire).

Modes de transmission dans les formes d'origine malveillante (utilisation de la toxine botulique) :

- Contamination de l'eau potable (réseau de distribution d'eau) ou action malveillante dans une usine de mise en bouteilles d'eau ou d'autres boissons.

- Contamination d'aliments dans une chaîne de préparation d'aliments ou de repas préparés (dans une usine du secteur agro alimentaire ou une cuisine de restauration collective ou bien encore contamination de produits de base utilisés dans la fabrication de plats).
- Transmission par inhalation d'une forme aérosolisée.
- Contamination de solutés injectables.

5. Dose létale minimale

Cet indicateur n'est valable que pour un mode d'introduction précis dans l'organisme (ingestion, inhalation, injection...) et se base sur des données extrapolées à partir de modèles animaux :

- Dose létale minimale chez l'homme par inhalation : 3 ng/kg.
- Dose létale minimale chez l'homme par injection IV : 1 ng/kg.
- Dose létale minimale chez l'homme par voie orale : 1 µg/kg

6. Impact de la voie de transmission sur la clinique de la maladie

Quel que soit le mode de contamination, la clinique est dominée par les symptômes neurologiques : paralysie flasque, symétrique, progressive et descendante ;

Dans les formes naturelles par transmission alimentaire, la symptomatologie digestive qui peut être prédominante est non spécifique de l'intoxication ;

La période d'incubation dépend de la dose de toxine : 12-36 heures (minimum : 6 heures / maximum : 10 jours).

7. Références

Aburutyn E. Botulisme. In : Harrison TR. Principes de Médecine Interne 14 ed française, Flammarion Médecine-Sciences, Paris 2000 ; 1046-1049

Popoff M.R. La menace terroriste liée à la toxine botulique. In : Menace terroriste, Approche médicale, John Libbey Eurotext, 2006 ; page 255-265

Bland S, Sédallian A, Dubreuil Luc. *Clostridium* autres que *C. Difficile*. In : Précis de bactériologie clinique, Editions ESKA 2000, page 1569-1576

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

CDC. Botulism in the United States, 1899--1996: handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 1998. Disponible sur <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/files/botulism.pdf>

Chin J (Editor). Control of communicable diseases manual. 17th ed. American public health association. Washington DC 2000.

Bossi P, Tegnell A, Baka A, Van Loock F, Hendriks J, Werner A, Maidhof H, Gouvras G. Bichat guidelines for the clinical management of botulism and bioterrorism-related botulism. Eurosurveillance, 2004 Dec,9 (12). Disponible sur <http://www.eurosurveillance.org/em/v09n12/0912-236.asp>

Bigalke H, Rummel A. Medical aspects of toxin weapons. Elsevier, Toxicology 214 (2005), 210-220.

Afssa. Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine, octobre 2002. Disponible sur <http://www.afssa.fr/ftp/basedoc/Botulismefinal25nov2002.pdf>

Chin J. Control of Communicable Diseases Manual, 17th edition. American Public Health Association. Washington, DC. 2000.

GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.3	CLINIQUE DU BOTULISME	Septembre 2010
--	------------------------------	-----------------------

OBJECTIF

DIAGNOSTIQUER CLINIQUEMENT ET PRECOCEMENT LE BOTULISME POUR PERMETTRE UNE PRISE EN CHARGE ADAPTEE.

1 Fondamentaux

- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 12-36 heures (minimum : 6 heures / maximum : 10 jours).
- Dose létale minimale chez l'homme : 1µg/kg par voie orale (données pour la toxine A extrapolées à partir d'études chez le primate et le rongeur).
- Symptomatologie clinique identique quel que soit le type de toxine botulique en cause.
- Grande hétérogénéité dans la gravité des manifestations cliniques, dépendant essentiellement de la dose de toxine.
- Importance d'un diagnostic et d'une prise en charge précoces pour l'amélioration du pronostic. Administration d'immuns sérums le plus tôt possible, sur les éléments cliniques, sans attendre la confirmation biologique.
- Importance du signalement précoce aux autorités sanitaires pour la conduite de l'enquête épidémiologique et la prise de mesures de gestion adaptées que le botulisme soit d'origine naturelle (recherche de la source de contamination) ou d'origine malveillante.

2 Signes précoces du botulisme

- Paralysie **symétrique** et descendante, débutant par une atteinte des nerfs crâniens
- Troubles de l'accommodation (sensation de vision floue), diplopie et sécheresse de la bouche sont les signes les plus précoces
- Dans les formes d'origine alimentaire (boissons, aliments), **signes** de gastro-entérite liés à l'ingestion d'autres bactéries ou toxines présentes dans l'aliment contaminé et **non spécifiques de l'intoxication** : diarrhées, nausées et vomissements, douleurs abdominales. Ces signes digestifs sont présents dans 90% des cas des formes alimentaires naturelles. Ils seront probablement absents en cas d'acte malveillant impliquant la seule toxine botulique pure.
- **Absence de fièvre**
- **Pas de trouble de la conscience**
- **Pas de trouble de la sensibilité**

3 Clinique du botulisme

- Diminution de la force musculaire évoluant vers une paralysie motrice, flasque, symétrique, progressive et **descendante** avec dans les formes les plus sévères, une paralysie des muscles respiratoires
- Signes oculaires : mydriase avec parfois abolition complète du réflexe photomoteur, ptosis
- Signes oropharyngés : dysarthrie, dysphonie, dysphagie
- Signes urinaires : dysurie ou rétention d'urines
- Signes digestifs : constipation

4 Particularités cliniques du botulisme chez l'enfant en bas âge

- L'installation paraît souvent brutale sans doute parce que les enfants ne sont pas capables d'exprimer les signes précoces de la maladie.
- La constipation est le premier signe mais peu spécifique. Il est suivi rapidement par une paralysie neuromusculaire qui commence par les paires crâniennes et qui progresse ensuite à la musculature périphérique et respiratoire. Les signes oculaires doivent être systématiquement recherchés, de l'absence de réponse pupillaire à la lumière jusqu'à la mydriase franche et aréactive dans les formes graves.
- Les signes les plus fréquents sont la difficulté à s'alimenter, la disparition de la mimique, la diminution du réflexe de succion et de l'intensité des cris, la faiblesse musculaire du cou et des muscles périphériques (enfant « mou ») et la détresse respiratoire. L'ouverture limitée de la bouche et une diminution du réflexe de succion sont de bons signes indicateurs du risque de détresse respiratoire.
- La gravité est variable depuis une simple difficulté à s'alimenter jusqu'à l'hypotonie sévère avec insuffisance respiratoire aiguë, voire mort subite du nourrisson.

5 Diagnostic différentiel

Les atteintes neurologiques du botulisme peuvent, surtout dans les formes débutantes, être communes à d'autres maladies neurologiques ou d'autres intoxications.

Plusieurs diagnostics différentiels peuvent donc être évoqués, parmi lesquels le syndrome de Guillain Barré et la myasthénie sont les plus fréquents:

Maladie	Fièvre	Signes oculaires	Extension	Symétrie	Type	Commentaires
Botulisme	Non	Oui	Descendante bulbaire	Symétrique	Motrice > autonome	Tenir compte du contexte (cas groupés) Aréflexie tardive Ptosis tardif
Syndrome de Guillain-Barré (dans sa variante, syndrome de Miller Fischer)	Oui (ATCD)	Non	Ascendante bulbaire	Symétrique	Motrice > sensitive > autonome	Tenir compte du contexte (cas isolé) Anomalies LCR Aréflexie précoce
Myasthénie	Non	Oui	Descendante bulbaire	Symétrique	Motrice autonome	Tenir compte du contexte (cas isolé) Ptosis précoce Fatigue Antécédents familiaux
Poliomyélite	Oui (ATCD)	Non	Ascendante bulbaire	Asymétrique focale	Motrice	Anomalies LCR aréflexie précoce
Intoxication à saxitoxine	Non	Non	Ascendante	Symétrique	Motrice et sensitive	Installation (30-60 min) et aggravation rapide vers le DC
Encéphalite à tique	Non	Non	Ascendante	Symétrique	Motrice > sensitive	Traces de piqûres et contexte géographique
Diphthérie	Oui	Non	Ascendante	Symétrique	Motrice	Angine à fausses membranes pharyngées Fièvre et myocardite dans 2/3 des cas
Paralysie périodique familiale	Non	Non	Ascendante sans atteinte respiratoire	Symétrique	Motrice	antécédents familiaux Contexte ethnique

6 Références

Abrutyn E. Botulisme. In : Harrison TR. Principes de Médecine Interne 14 ed française, Flammarion Médecine-Sciences, Paris 2000 ; 1046-1049

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

Pilly E. Maladies infectieuses et tropicales, Edition EM2, 2004, page 360-361.

CDC. Botulism in the United States, 1899--1996: handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 1998. Disponible sur <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/files/botulism.pdf>

Arnon SS, Scechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Fine AE. Botulium Toxin as a Biological Weapon : medical and public health management. JAMA. 2001;285 (8):1059-1070

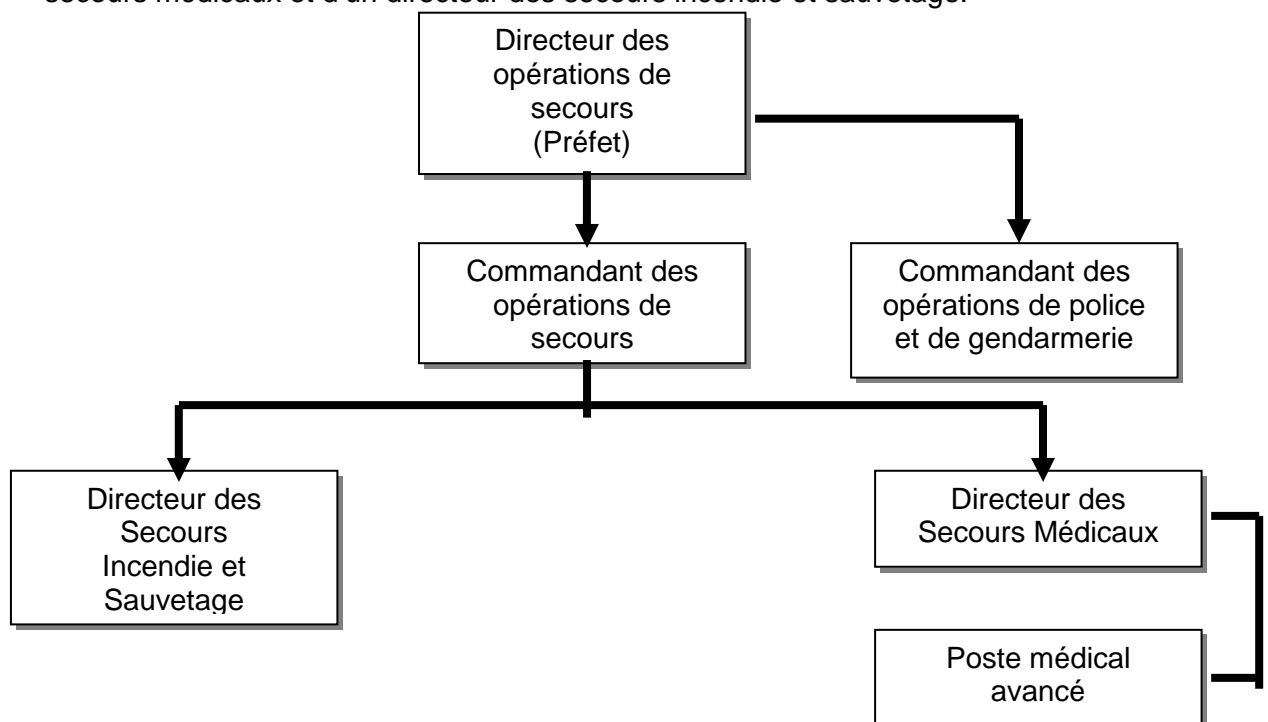
GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.4	PRISE EN CHARGE DES PERSONNES EXPOSEES SUR LE LIEU D'UN ACTE MALVEILLANT PAR AEROSOLISATION	Septembre 2010
--	--	-----------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE LES PERSONNES EXPOSEES A UN AGENT BIOTERRORISTE DE FAÇON PRECOCE ET LES EVACUER VERS UNE ZONE SAINNE DANS DE BONNES CONDITIONS DE SECURITE, EMPECHER LA DISSEMINATION DE L'AGENT BIOLOGIQUE.

1. Fondamentaux

- Dans l'attente de la confirmation de la nature de l'attentat, les actions spécifiques au risque maximal (radiologique et chimique) sont engagées par les pompiers.
- Après la levée de doute, excluant un risque radiologique ou chimique, les mesures de protection pour le risque biologique maximal sont appliquées. Le délai nécessaire à l'identification de l'agent du botulisme (environ 24 heures) implique le maintien de ces mesures durant la prise en charge sur le lieu de l'attentat des personnes exposées.
- Résistance faible de la toxine botulique dans l'environnement. L'oxygène détruit les toxines présentes à l'air libre qui sont, en général, complètement inactivées en 12 à 48 heures. L'inactivation est facilitée par l'exposition à la lumière solaire (destruction des toxines en moins de trois heures).
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 12-36 heures (minimum : 6 heures / maximum : 10 jours). Toutefois la durée d'apparition des signes précoces n'est pas compatible avec leur détection par examen clinique sur le lieu de l'attentat.
- La direction des opérations de secours relève du préfet, représentant de l'Etat dans le département.
- Le commandement des opérations de secours relève du directeur des services d'incendie et de secours sous l'autorité du préfet avec l'appui d'un directeur de secours médicaux et d'un directeur des secours incendie et sauvetage.



2. Circonstances

- L'attentat est d'emblée revendiqué.
- Le lieu de l'attentat est connu.
- Le délai d'intervention des autorités sur le lieu de l'attentat est compatible avec la prise en charge des personnes exposées avant leur dispersion.

3. Préalable pour les actes malveillants par aérosolisation

- Circonscrire le lieu de l'évènement afin d'interdire toute entrée ou toute sortie non contrôlée.
- Toujours respecter le principe de la marche en avant.
- Identifier un point de regroupement des victimes au vent de la zone contaminée, et y acheminer les victimes.
- Définir des consignes de mise à l'abri pour les populations limitrophes.
- Alléger les moyens de protection initiaux (risque maximal) des intervenants en zone d'exclusion dès l'instant où les risques radiologique et chimique sont éliminés.
- Pour les actes malveillants en milieu fermé (exemple, salle de concert) : fermer les ouvrants (portes, fenêtres...) du ou des locaux concernés et arrêter les circuits de ventilation et de traitement de l'air.

4. Protocole de prise en charge des victimes

➤ En zone de danger ou d'exclusion

- Evacuation immédiate hors de la zone contaminée des sujets exposés par les pompiers revêtus d'un équipement de protection individuel NRBC, et regroupement à distance de sécurité, dans une zone propre, mais contaminables appelée zone contrôlée,
- Si le transfert ne peut se faire immédiatement, recenser et isoler les sujets exposés dans un local adjacent non contaminé (local qui devra être éventuellement décontaminé par la suite après identification de l'agent en cause). Ce local devient la zone contrôlée,
- Si des véhicules ou des brancards sont utilisés pour le transfert, ils doivent être protégés par des feuilles plastiques et ultérieurement, si nécessaire, être décontaminés (selon la nature de l'agent en cause),
- Port d'un masque FFP2 par les victimes (risque de ré-aérosolisation secondaire),
- Interdiction de fumer, boire ou manger.

➤ En zone de décontamination ou point de regroupement des victimes en zone contrôlée

- Matériel nécessaire :

Dès la levée de doute sur les risques radiologique et chimique, la tenue de protection du personnel en charge des sujets exposés est composée des éléments suivants :

- APR à usage unique de type FFP2,
 - calots ou charlottes à usage unique,
 - lunettes de protection,
 - surblouses à usage unique,
 - paire de gants à usage unique,
 - bottes ou à défaut surbottes,
 - conteneurs DASRI.
- La prise en charge des personnes exposées inclut :
Une décontamination réalisée par les services d'incendies et de secours comportant plusieurs étapes : voir fiches 2-2 et 2-3 du guide PCT disponible sur le site internet du ministère de la santé et des sports.
 - Des soins médicaux en cas d'urgence absolue (les autres soins étant effectués dans le poste médical avancé en zone de soutien) réalisés par le SAMU ou les médecins des services d'incendie et de secours quand leurs équipes sont médicalisées.

➤ **En zone de soutien ou « propre »**

Le personnel ne nécessite pas de protection particulière.

- Le directeur des secours médicaux, sous l'autorité du Commandant des Opérations de Secours (COS), met en œuvre l'installation du poste médical avancé (PMA) permettant :
 1. la prise en charge des personnes exposées dont l'état de santé le nécessite (essentiellement en raison de la décompensation de pathologies pré-existantes liée au stress de l'attentat)
 2. l'identification et la traçabilité des victimes et des impliqués (renseignement de la fiche de suivi élaborée par l'InVS)
 3. l'information des personnes exposées sur la conduite à tenir lors du retour au domicile :
 - Remise d'une fiche présentant les signes d'appel des principales pathologies pouvant être impliquées dans un attentat bioterroriste (peste, charbon, tularémie, variole, botulisme), la durée et les modalités de la surveillance et la conduite à tenir en cas d'apparition de ces premiers signes pour une prise en charge adaptée.
 - Recours au centre 15 pour la régulation en cas d'apparition de signes cliniques.
 - Recours au numéro vert (au niveau du département ou au niveau national quand plusieurs départements sont impliqués ou quand les capacités de réponse locales sont dépassées) pour répondre aux autres questions (voir fiche communication).
- La mise en place éventuelle d'un site de distribution des antibiotiques (SDA) pour l'ensemble des personnes exposées, après évaluation du risque par les autorités sanitaires (DUS).

La distribution d'antibiotiques s'impose quand l'agent n'a pu être identifié ou quand les agents de la peste, du charbon et de la tularémie sont en cause ou n'ont pas pu faire l'objet d'un diagnostic d'exclusion.

Voir fiche 4 du guide peste charbon tularémie, disponible sur le site internet du ministère de la santé
- En cas de besoin, la mise en place d'une cellule d'urgence médico-psychologique (CUMP) permettant de proposer immédiatement aux personnes exposées une prise en charge adaptée.
- Information de l'ARS qui la relaie :
 1. sans délai, en appelant, les autorités sanitaires (préfet, CORRUSS pour le département des urgences sanitaires/DGS, InVS)
 2. par tout moyen approprié, auprès des directeurs d'établissement de santé à l'attention des services d'urgences, de réanimation, de maladies infectieuses, des laboratoires de microbiologie et des pharmacies.

➤ **Retour des personnes exposées à domicile** en l'absence de symptômes.

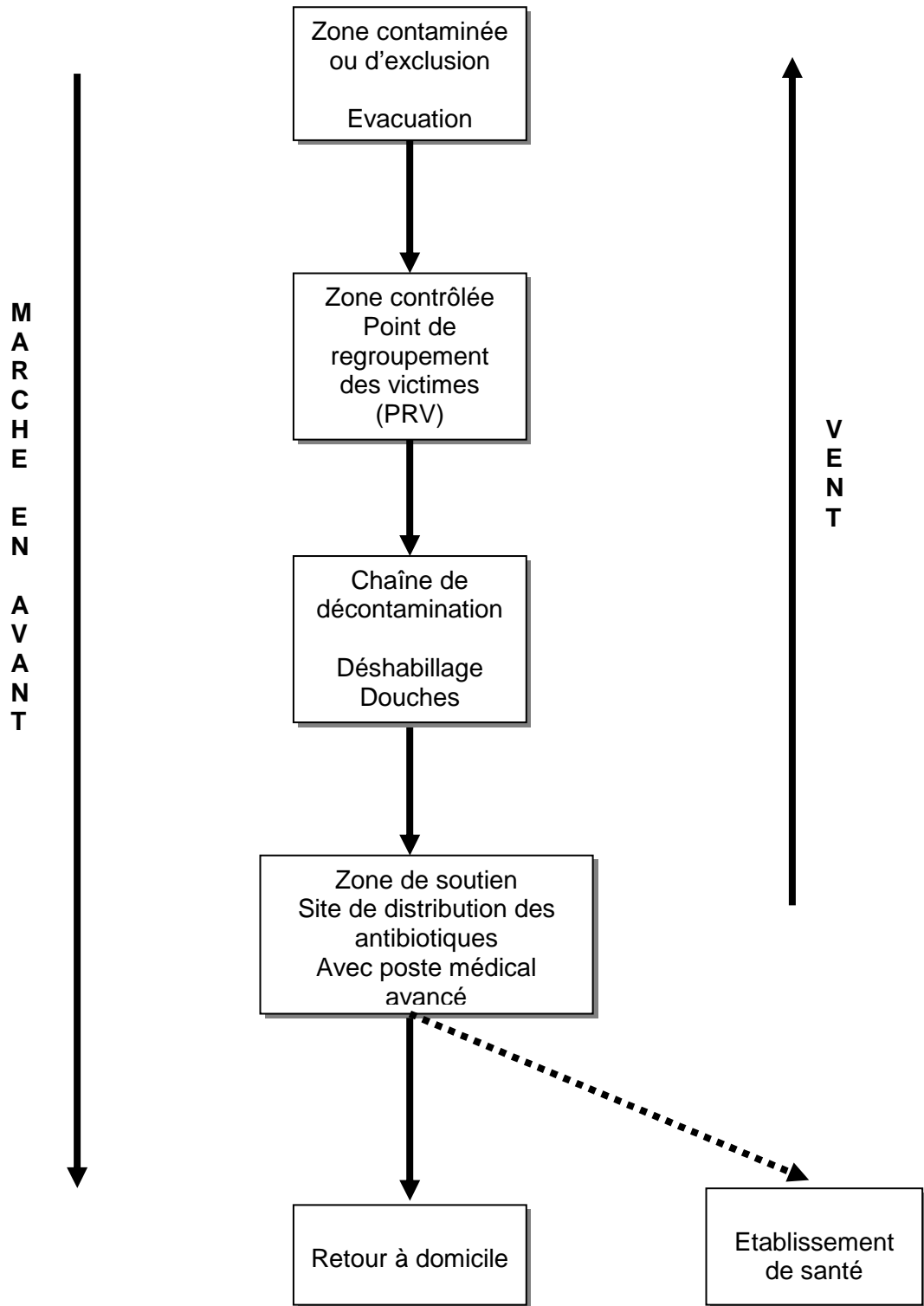
- **Recommandation d'une consultation systématique** du médecin traitant à 48 heures de l'exposition
- **Orientation vers les établissements de santé** en cas d'apparition de symptômes nécessitant une prise en charge clinique après régulation par le centre 15
- **Suivi des personnes exposées** assuré par l'InVS à l'aide d'une fiche de suivi renseignée sur le lieu de l'exposition.

5. Références

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

CDC and the Association for Practitioners in Infection Control and Epidemiology (APIC)"Bioterrorism Readiness Plan: A Template for Healthcare Facilities". Atlanta, Georgia and Washington.1999. <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/bt/13apr99APIC-CDCBioterrorism.PDF>

Schéma d'implantation d'une chaîne de prise en charge des personnes exposées



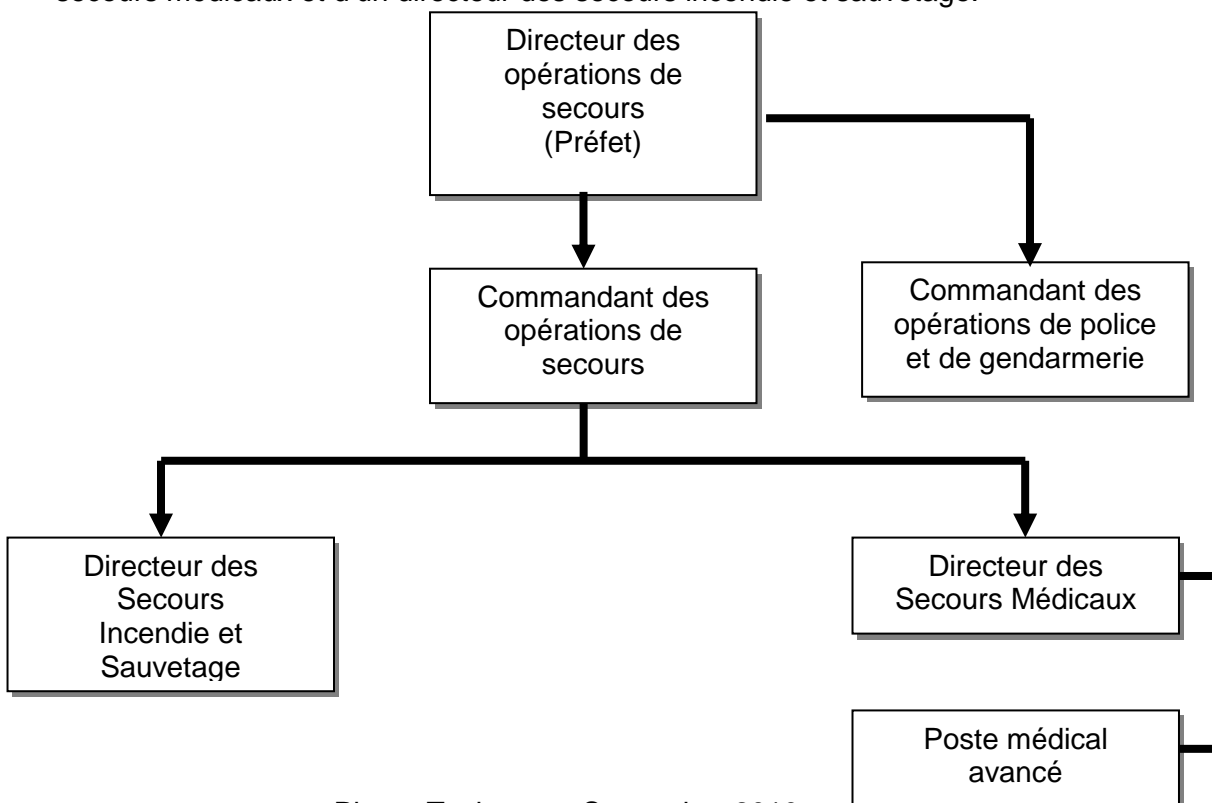
GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.5	PRISE EN CHARGE DES PERSONNES EXPOSEES APRES UNE CONTAMINATION MALVEILLANTE ALIMENTAIRE OU HYDRIQUE EN MILIEU COLLECTIF	Septembre 2010
--	--	-----------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE LES PERSONNES EXPOSEES A UN AGENT BIOTERRORISTE DE FAÇON PRECOCE APRES REVENDICATION DE LA CONTAMINATION D'UN ALIMENT OU D'UNE BOISSON LORS D'UN REPAS COLLECTIF.

1. Fondamentaux

- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 12-36 heures (minimum : 6 heures / maximum : 10 jours). Toutefois la durée d'apparition des signes précoces n'est pas compatible avec leur détection par examen clinique sur le lieu de l'attentat.
- Pas de mesure de décontamination des personnes exposées ni de mesures de protection particulières pour les intervenants
- Inactivation de la toxine au cours de la cuisson à une température de 100°C pendant 10 minutes et ceci quelle que soit la matrice
- Dégradation de la toxine pure par les produits de désinfection de l'eau (en particulier, chlore : en moins de 3 minutes à une concentration en chlore libre comprise entre 0,2 et 0,5 mg/ml) mais efficacité moindre en cas de présence de matières organiques
- Stabilité à 80% de la toxine A dans l'eau du robinet après 1 à 2 jours d'exposition à la lumière, à température ambiante
- Le Préfet représentant de l'Etat dans le département est le directeur des opérations de secours,.
- Le commandement des opérations de secours relève du directeur des services d'incendie et de secours sous l'autorité du préfet avec l'appui d'un directeur des secours médicaux et d'un directeur des secours incendie et sauvetage.



2. Circonstances

- L'attentat est d'emblée revendiqué.
- Le lieu de l'attentat est connu.
- Le délai d'intervention des autorités sur le lieu de l'attentat est compatible avec la prise en charge des personnes exposées avant leur dispersion.

3. Préalable à la prise en charge

- Interdire l'accès au public du lieu du rassemblement collectif
- Empêcher toute consommation des aliments et boissons
- Consigner l'ensemble des aliments et des eaux de boisson aux fins d'analyse (voir fiche de détection)
- Identifier un point de regroupement des victimes

4. Protocole de prise en charge des victimes

➤ Au point de regroupement des victimes

- Le directeur des secours médicaux, sous l'autorité du COS, met en œuvre, l'installation du poste médical avancé (PMA) permettant :
 1. la prise en charge clinique des victimes dont l'état de santé le nécessite (essentiellement en raison de la décompensation de pathologies pré-existantes liée au stress de l'attentat) ;
 2. l'identification et la traçabilité des personnes (renseignement de la fiche de suivi élaborée par l'InVS) ;
 3. l'information des personnes exposées sur la conduite à tenir lors du retour au domicile :
 - Remise d'une fiche présentant les signes d'appel du botulisme, la nécessité d'une surveillance pendant 10 jours et la conduite à tenir en cas d'apparition de ces premiers signes pour une prise en charge adaptée.
 - Recours au centre 15 pour la régulation en cas d'apparition de signes cliniques.
 - Recours au numéro vert (au niveau du département ou au niveau national quand plusieurs départements sont impliqués ou quand les capacités de réponse locales sont dépassées) pour répondre aux autres questions (voir fiche communication).
- Mise en place d'une cellule d'urgence médico-psychologique (CUMP) permettant de proposer immédiatement aux personnes exposées une prise en charge adaptée, en cas de besoin.
- Information de l'ARS qui la relaie :
 1. sans délai, en appelant, les autorités sanitaires (Préfet, Direction des services vétérinaires, CORRUSS pour le département des urgences sanitaires/DGS, InVS)
 2. par tout moyen approprié, auprès des directeurs d'établissement de santé à l'attention des services d'urgences, de réanimation, des laboratoires de microbiologie et des pharmacies.
- **Retour des personnes exposées à domicile** en l'absence de symptômes.
- **Recommandation d'une consultation systématique** du médecin traitant à 48 heures de l'exposition.
- **Orientation vers les établissements de santé** en cas d'apparition de symptômes nécessitant une prise en charge clinique après régulation par le centre 15.
- **Suivi des personnes exposées** assuré par l'InVS à l'aide d'une fiche de suivi renseignée sur le lieu de l'exposition.

5. Références

Popoff M.R. La menace terroriste liée à la toxine botulique. In : Menace terroriste, Approche médicale, John Libbey Eurotext, 2006 ; page 255-265

CDC and the Association for Practitioners in Infection Control and Epidemiology (APIC) "Bioterrorism Readiness Plan: A Template for Healthcare Facilities". Atlanta, Georgia and Washington. 1999. <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/bt/13apr99APIC-CDCBioterrorism.PDF>

Botulisme alimentaire au Nunavik, Protocole de Santé publique
<http://www.rrsss17.gouv.qc.ca/santepub/>

WHO, International Program on Chemical Safety Poisons Information Monograph 858
Bacteria – Clostridium Botulinum, 1999, page 1 - 32.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxine Botulique</p> <p>Fiche n°2.6</p>	<p>PRISE EN CHARGE A DOMICILE DES PERSONNES EXPOSEES APRES UN ACTE MALVEILLANT IMPLIQUANT L'AGENT DU BOTULISME</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	---	------------------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE A DOMICILE LES PERSONNES EXPOSEES, DE FACON A DEPISTER PRECOCEMENT LES PREMIERS SIGNES DU BOTULISME.

1. Fondamentaux

- Pour la toxine botulique, le risque cutané est considéré comme nul et le risque associé à une ré-aérosolisation pour les personnes exposées négligeable. Il est néanmoins conseillé d'effectuer une décontamination des personnes exposées à un aérosol de toxine botulique (déshabillage, lavage avec eau, shampoing et savon).
- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour.
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 12-36 heures (minimum : 6 heures / maximum : 10 jours).
- Dose létale minimale chez l'homme : 1µg/kg par voie orale (données pour la toxine A extrapolées à partir d'études chez le primate).
- Importance d'un diagnostic et d'une prise en charge précoces pour l'amélioration du pronostic.

2. Circonstances

- Le risque terroriste n'est pas connu immédiatement
- La population exposée s'est dispersée.
- Revendication terroriste a posteriori ou survenue de cas de botulisme qui alertent les autorités sanitaires.
- Les personnes exposées sont identifiées par une enquête épidémiologique.

3. Premières mesures de communication/information

- a. Activation d'une **plate forme téléphonique** dédiée aux personnes exposées au niveau du département ou au niveau national (quand plusieurs départements sont impliqués ou quand les capacités de réponse locales sont dépassées).
Pour permettre le traitement des appels, les écoutants reçoivent :
 - la fiche de l'InVS qui précise les critères d'exposition,
 - la fiche de l'inVS qui va permettre d'assurer la traçabilité,
 - la fiche d'information sur le botulisme élaborée par la DGS,
 - un document « questions/réponses » sur le botulisme adapté aux particularités de la situation présente.
- b. Information des centres 15 et des établissements de santé (services d'urgence, services de réanimation et CAP-TV) par MARS (message d'alerte sanitaire rapide émis par le ministère de la Santé). Le MARS précise que les appels des personnes exposées non symptomatiques, reçus au niveau du centre 15, doivent être basculés vers la plate forme téléphonique.
- c. Régulation par le centre 15 de la prise en charge des personnes exposées symptomatiques. Les **médecins traitants** assurent le suivi des personnes exposées et asymptomatiques, notamment en ce qui concerne le dépistage des signes précoces de la maladie.
- d. Information des médecins traitants par émission d'un message DGS-urgent et par la mise en ligne d'informations pratiques pour la prise en charge sur le site Internet du Ministère de la Santé. Un numéro d'appel dédié peut leur être réservé.

4. Protocole de prise en charge des personnes exposées

4.1 Information des personnes exposées

Les personnes exposées sont informées par les médias (réquisitionnés au besoin à cet effet) des circonstances de l'exposition et sont invitées à contacter la plate forme téléphonique mise en place.

Les écoutants de la plate forme téléphonique :

1. vérifient avec l'appelant la réalité de l'exposition grâce à une fiche élaborée par l'InVS (qui retrace les circonstances de l'exposition en termes de temps, de lieu et d'espace)
2. renseignent la fiche de suivi de l'InVS pour assurer l'identification et la traçabilité des personnes
3. Si la personne est symptomatique : recommandent l'appel immédiat au centre 15
4. Si la personne n'est pas symptomatique :
 - soit l'agent biologique en cause n'est pas encore identifié
Informent sur la nécessité éventuelle d'une décontamination (voir paragraphe infra)
Informent sur la nécessité d'une surveillance clinique sur la base d'une fiche présentant les signes d'appel des principales pathologies pouvant être impliquées dans un attentat bioterroriste (peste, charbon, tularémie, variole, botulisme), la durée et les modalités de la surveillance
 - soit l'agent biologique en cause est identifié comme étant celui du botulisme
Informent sur l'absence de nécessité d'une décontamination et l'absence de risque de contamination de l'entourage
Renseignent sur les signes précoces sur la base d'une fiche d'information spécifique « botulisme » et sur la nécessité d'une surveillance clinique pendant 10 jours
 - Recommandent une consultation chez le médecin traitant à 48 heures de l'exposition
 - Indiquent la nécessité du recours au centre 15 en cas d'apparition des signes précoces

Les fiches d'information sont téléchargeables sur Internet (www.sante.gouv.fr) et mises à disposition par les autorités sanitaires locales au niveau de lieux publics de proximité.

4.2. Décontamination

1. Donner comme consigne de se déshabiller sans secouer les vêtements en évitant de mettre l'extérieur des vêtements en contact avec la peau nue
2. Placer immédiatement les vêtements dans le lave-linge (en faisant tourner à la température maximale à adapter en fonction de la nature des vêtements) ou à défaut dans un sac poubelle à fermer par un lien
3. Faire un shampoing (3 mn au minimum) puis prendre une douche savonneuse (3 mn au minimum)

4.3. Suivi médical

1. En l'absence de symptomatologie : par le médecin traitant avec une consultation systématique 48 heures après l'exposition qui permet de s'assurer que toutes les consignes de surveillance ont bien été intégrées par la personne exposée et qui permet d'évaluer le stress post traumatique.
2. En présence de signes précoces : par le centre 15 pour la régulation en vue d'une prise en charge adaptée.

Le centre 15 évalue le classement de la personne exposée en cas possible (en cas de doute, le médecin régulateur du centre 15 contacte l'InVS qui peut mettre en place une cellule d'aide à l'évaluation clinico-épidémiologique ou

par défaut au réanimateur de l'établissement de santé référent), la nécessité de l'hospitalisation du patient et, le cas échéant, l'organisation de son transport sécurisé vers un établissement de santé et un service dédié adapté à son état.

5. Protection des médecins intervenant auprès des patients

- Application des précautions d'hygiène standards
- Elimination des matériels de prélèvement ou de soins usagés par la filière DASRI
- Décontamination du matériel réutilisable selon les modalités habituelles

6. Alerte des autorités sanitaires

Le botulisme fait partie des maladies à déclaration obligatoire. La transmission de données individuelles à l'autorité sanitaire met en jeu deux processus de transmission des données : le signalement et la notification.

Le signalement

Le botulisme est une des maladies qui justifient une intervention urgente et sont à signaler.

- Procédure

Le signalement des maladies à déclaration obligatoire par les médecins et les biologistes qui les suspectent ou les diagnostiquent à l'Agence Régionale de Santé de leur lieu d'exercice, est une procédure d'urgence et d'alerte qui s'effectue sans délai, sans support dédié et par tout moyen approprié (téléphone, télécopie) avant même confirmation du diagnostic et envoi de la fiche CERFA (http://www.invs.sante.fr/surveillance/mdo/fiches/fiche_botulisme.pdf).

La procédure de signalement permet au médecin inspecteur de santé publique de réagir rapidement, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et de prendre les mesures de gestion nécessaires. Ces investigations peuvent impliquer, en tant que de besoin, les Cellules interrégionales d'épidémiologie (Cire), l'Institut de veille sanitaire, les Centres nationaux de référence (CNR) et les autres services déconcentrés de l'Etat (Direction en charge des services vétérinaires, Direction en charge de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes...).

Dans le cadre de la procédure de signalement, les données transmises par les déclarants peuvent être nominatives. Ces données nominatives ne sont pas conservées au-delà du temps nécessaire à l'investigation et à l'intervention.

- Critères de signalement

Diagnostic clinique de botulisme sans attendre la confirmation biologique. Devant une simple suspicion, en cas de doute, le médecin ou le biologiste doivent signaler le cas à l'ARS qui se chargera de le confirmer, si nécessaire avec l'aide de l'InVS.

- Particularités en cas de survenue de cas évocateurs d'une origine malveillante :

Scénarios pouvant faire évoquer une origine malveillante (nota bene : ces scénarios n'excluent pas une origine naturelle mais doivent particulièrement attirer l'attention) :

1. survenue concomitante ou groupée géographiquement de plusieurs cas présentant des signes d'atteinte neurologique compatibles avec un botulisme.
2. implication, dans la survenue des cas, d'un type, inhabituel en France, de toxine botulique (A, E, C, D, F, G)
3. survenue de plusieurs cas de botulisme pour lesquels aucune exposition alimentaire commune n'est retrouvée, présentant en revanche des caractéristiques communes d'exposition géographique (ex : aéroport, lieu de travail, lieu d'habitation).

- Remontée de l'alerte : après avoir validé les informations du déclarant, l'ARS doit faire remonter ce signalement sans délai à l'InVS et au ministère de la santé (CORRUSS du département des urgences sanitaires / DGS). Après avis de l'InVS, le DUS confirme ou infirme la possible origine malveillante. Si une possible origine malveillante est retenue, l'ARS informe alors le procureur de la République.

La notification

La notification est une procédure de transmission de données individuelles par le médecin ou le biologiste déclarant à l'ARS du lieu d'exercice au moyen d'une fiche spécifique à chaque maladie.

Pour le botulisme, cette fiche est accessible à l'adresse internet suivante :

http://www.invs.sante.fr/surveillance/mdo/fiches/fiche_botulisme.pdf

Cette procédure est concernée par la protection renforcée de l'anonymat des personnes.

7. Références

Loi du 1er juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme

Décret n°99-363 du 6 mai 1999 fixant la liste des maladies faisant l'objet d'une déclaration obligatoire (Journal officiel du 13 mai 1999) complété par :

- le décret n°2001-910 du 5 octobre 2001 (Journal officiel du 8 octobre 2001)

- le décret n°2002-1089 du 7 août 2002 (Journal officiel du 11 août 2002)

- décret n°99-362 du 6 mai 1999 modifié par le décret n°2001-437 du 16 mai 2001 fixant les modalités de transmission à l'autorité sanitaire de données individuelles concernant les maladies visées à l'article L. 3113-1 du code de la santé publique et modifiant les articles R.11-2 et R.11-3 du code de la santé publique (Journal officiel du 23 mai 2001)

CDC. Botulism, control measures overview for clinicians. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, October 2006. Disponible sur : <http://www.bt.cdc.gov/agent/Botulism/clinicians/control.asp>

CDC. Botulism, treatment overview for clinicians. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, October 2006. Disponible sur : <http://www.bt.cdc.gov/agent/Botulism/clinicians/treatment.asp>

GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.7	PRISE EN CHARGE EN ETABLISSEMENT DE SANTE DES PERSONNES EXPOSEES A L'AGENT DU BOTULISME	Septembre 2010
--	--	-----------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE EN ETABLISSEMENT DE SANTE DANS DES CONDITIONS PERMETTANT UNE QUALITE DES SOINS OPTIMALE LES PERSONNES EXPOSEES.

1. Fondamentaux

- Pour la toxine botulique, le risque cutané est considéré comme nul et le risque associé à une ré-aérosolisation pour les personnes exposées négligeable. Toutefois, il est conseillé d'effectuer une décontamination « douce » des personnes exposées à un aérosol de toxine botulique (déshabillage, lavage avec shampoing et savon).
- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 12-36 heures (minimum : 6 heures / maximum : 10 jours).
- La toxine A est la plus toxique (4 fois plus toxique que la toxine tétanique, 300 fois plus que la toxine diphtérique, 30000 fois plus que la ricine et 10^{11} que le cyanure de sodium)
- Dose létale minimale chez l'homme : $1\mu\text{g}/\text{kg}$ par voie orale (données pour la toxine A extrapolées à partir d'études chez le primate).
- Importance d'un diagnostic et d'une prise en charge précoces pour l'amélioration du pronostic
- Destruction de la toxine par ébullition ($\geq 100^\circ\text{C}$ pendant 10 minutes).

2. Circonstances

Rappel : dès lors que l'attentat terroriste a mis en jeu un aérosol, que la présence d'un agent radiologique ou chimique a été éliminée, tant que l'agent causal n'a pas été identifié, vers les établissements ciblés pour le risque biologique dans le cadre du plan blanc élargi. Dans ce cas de figure, le guide peste-charbon-tularémie sert alors de référence pour la gestion de l'évènement. In fine, si le botulisme est identifié (mise en évidence de la toxine lors d'un test de détection, symptômes cliniques, etc.), les recommandations ci-dessous doivent alors être mises en œuvre.

Plusieurs types de patients peuvent se présenter en établissement de santé :

- Des patients symptomatiques le plus souvent régulés par le centre 15 et dont la prise en charge est assurée par les services de réanimation les plus proches parmi ceux des établissements de santé identifiés dans le cadre du plan blanc élargi. Pour permettre une régulation efficace, le centre 15 recense au moins une fois par jour le nombre de places de réanimation disponibles dans les établissements de santé du département ;
- Des personnes exposées se présentant directement aux urgences.
- Les personnes exposées asymptomatiques sont orientées vers leur domicile et font l'objet de la même information et du même suivi que les personnes exposées prises en charge sur le lieu de l'attentat (information sur la nécessité d'une surveillance pendant 10 jours à compter de la date d'exposition, les premiers signes du botulisme et l'utilité de recourir au centre 15 pour la régulation en cas d'apparition de ces premiers signes pour une prise en charge adaptée ; renseignement de la fiche de suivi élaborée par l'InVS).

- Les personnes exposées symptomatiques sont prises en charge et orientées vers les services de soins adaptés via la régulation par le centre 15.
- Des mesures de décontamination sont conseillées même si le risque est considéré comme négligeable, voire nul.
- Des personnes non exposées au risque bio-terroriste qui se présentent spontanément et pour lesquelles le retour à domicile est recommandé.

3. Préalable

La prise en charge médicale du botulisme nécessite des conditions d'hospitalisation particulières basées sur une chaîne de prise en charge adaptée à la sévérité de la forme clinique : unités d'hospitalisation, unités de soins continus, unités de réanimation.

Il est nécessaire d'établir au préalable :

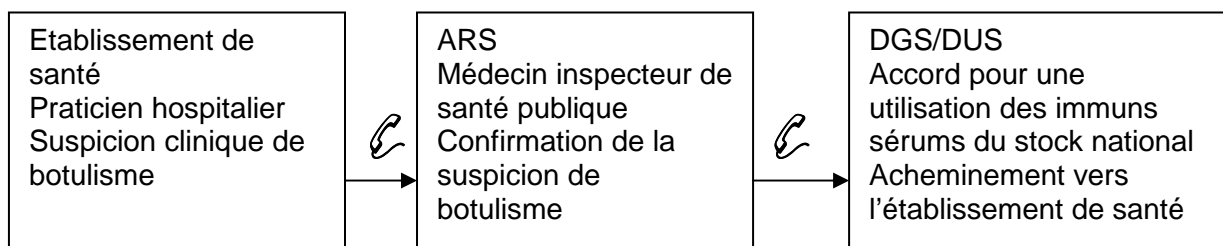
- un état des lieux régional, zonal et national des capacités d'hospitalisation , en soins continus et en réanimation pour les secteurs adultes et enfant et un état des lieux du parc de respirateurs.
- Un état des lieux au niveau de chaque zone de défense, qui est en charge de définir sa propre organisation mais doit au minimum disposer de :
 1. Liste des établissements de santé dans lesquels les patients doivent être orientés de façon prioritaire dans le cadre du plan blanc élargi.
 2. Cartographie et capacité des services de réanimation (les données des schémas régionaux de l'organisation des soins de dernière génération pourront être utilement exploitées.
 3. Evaluation dans chaque établissement dédié des capacités des salles de réveil afin de pouvoir envisager par la déprogrammation des activités du bloc chirurgical, une mise à disposition de capacités supplémentaires de réanimation (lits, respirateurs, personnels formés). L'ensemble des procédures applicables au sein de ces établissements de santé a vocation à être défini dans l'annexe biologique spécifique des plans blancs de ces établissements.

Une prise en charge précoce par **immuns sérums spécifiques**.

- a. A la demande du ministre de la Santé, l'EPRUS (établissement de préparation et de réponse aux urgences sanitaires) est en charge de l'achat, du stockage et de l'acheminement des immuns sérums antitoxiniques du stock stratégique national ;
- b. Le ministère de la Santé donne l'ordre de service permettant le déstockage des produits des stocks stratégiques nationaux ;
- c. Les immuns sérums antitoxiniques n'ayant pas d'autorisation de mise sur le marché, ils pourront être utilisés en fonction des circonstances soit dans le contexte d'une autorisation temporaire d'utilisation nominative (article L. 5121-12b du code de la santé publique) émise par l'Afssaps, soit d'un arrêté ministériel pris dans les conditions définies à l'article L3131-1 du code de la santé publique.

4. Matériel nécessaire

- Places de réanimation, respirateurs
- Réserves d'oxygène
- Immuns sérums antitoxiniques



5. Protocole de prise en charge des patients

5.1 Régulation

- Lors de l'appel pour un malade présentant des signes d'atteinte par une neurotoxine botulique, le médecin régulateur du centre 15 envoie le moyen sanitaire qu'il juge le plus adapté à la situation clinique du patient. En cas de doute, le médecin régulateur contacte l'InVS qui peut mettre en place une cellule d'aide à l'évaluation clinico-épidémiologique ou par défaut le réanimateur de l'établissement de santé référent.
- Le patient est orienté vers le service de réanimation le plus proche parmi ceux des établissements de santé identifiés dans le cadre du plan blanc élargi. Pour permettre une régulation efficace, le centre 15 recense au moins une fois par jour le nombre de places de réanimation disponibles dans les établissements de santé du département.
- Le SAMU départemental informe le SAMU de l'établissement de référence de la zone de défense du risque de contamination possible d'autres personnes. En cas de besoin, le médecin coordonnateur de la zone organise la mise à disposition de respirateurs complémentaires.
- L'absence de risque de transmission inter-humaine n'implique pas de précaution particulière pour le transport sanitaire hors les capacités de ventilation assistée.

5.2 Recommandations en cas de dépassement des capacités habituelles de prise en charge hospitalière en réanimation du département

- Au sein des établissements de santé : déprogrammation et utilisation des salles de réveil
- Quand les capacités des établissements du département sont dépassées : régulation régionale, voire nationale pour transférer les patients vers des services de réanimation disposant de lits disponibles.

5.3 Admission dans un établissement de santé

- Afin de permettre la prise en charge rapide de patients présentant un botulisme et de ne pas perturber l'activité des urgences, il y a lieu d'identifier, en cas de suspicion d'acte malveillant, dans tout établissement de santé disposant d'un service d'urgence, une filière de prise en charge dédiée et identifiée.
- Orientation vers la structure adaptée à la sévérité de la forme clinique : unités d'hospitalisation, unités de soins continus, unités de réanimation. Dans les cas les plus sévères, deux à huit semaines d'assistance respiratoire peuvent être nécessaires.
- Les prélèvements biologiques visant à mettre en évidence l'existence de la toxine botulique sont à mettre en œuvre dès l'admission du patient et avant toute administration de médicaments (cf. fiche sur les prélèvements biologiques).

5.4 Isolement

Pas de mesure d'isolement en l'absence de risque de transmission inter humaine.

5.5 Protection du personnel et de l'environnement

Seules les mesures standard sont à mettre en œuvre.

Mesures environnementales :

- Décontamination des surfaces avec une solution de 0,5% d'hypochlorite de sodium (voir en annexe la fiche pratique relative à l'utilisation de l'eau de javel en milieu de soins)
- Elimination des matériels de prélèvement ou de soins usagés par la filière DASRI
- Décontamination du matériel réutilisable selon les modalités habituelles

5.6 Opérations funéraires

Pas de mesures spécifiques.

6. Alerte des autorités sanitaires

Le botulisme fait partie des maladies à déclaration obligatoire. La transmission de données individuelles à l'autorité sanitaire met en jeu deux processus de transmission des données : le signalement et la notification.

6.1 Le signalement

Le botulisme est une des maladies qui justifient une intervention urgente et sont à signaler.

- Procédure

Le signalement des maladies à déclaration obligatoire par les médecins et les biologistes qui les suspectent ou les diagnostiquent à l'Agence Régionale de Santé (ARS) de leur lieu d'exercice est une procédure d'urgence et d'alerte qui s'effectue sans délai sans support dédié et par tout moyen approprié (téléphone, télécopie).

En dehors des heures ouvrables, le permanencier de l'ARS est joignable par l'intermédiaire du standard de la préfecture du département.

La procédure de signalement permet à l'ARS de réagir rapidement, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et de prendre les mesures de gestion nécessaires. Ces investigations peuvent impliquer, en tant que de besoin, les Cellules interrégionales d'épidémiologie (Cire), l'Institut de veille sanitaire, les Centres nationaux de référence (CNR) et les autres services déconcentrés de l'Etat (Direction départementale en charge des services vétérinaires, Direction départementale en charge de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes...).

Dans le cadre de la procédure de signalement, les données transmises par les déclarants peuvent être nominatives. Ces données nominatives ne sont pas conservées au-delà du temps nécessaire à l'investigation et à l'intervention.

- Critères de signalement

Diagnostic clinique de botulisme sans attendre la confirmation biologique. Devant une simple suspicion, en cas de doute, le médecin ou le biologiste doivent signaler le cas à l'ARS qui se chargera de le confirmer, si nécessaire avec l'aide de l'InVS.

- Particularités en cas de survenue de cas évocateurs d'une origine malveillante :

Scénarios pouvant faire évoquer une origine malveillante (nota bene : ces scénarios n'excluent pas une origine naturelle mais doivent particulièrement attirer l'attention) :

1. survenue concomitante ou groupée géographiquement de plusieurs cas présentant des signes d'atteinte neurologique compatibles avec un botulisme.
2. implication, dans la survenue des cas, d'un type inhabituel en France, de toxine botulique (A, E, C, D, F, G)

3. survenue de plusieurs cas de botulisme pour lesquels aucune exposition alimentaire commune n'est retrouvée, présentant en revanche des caractéristiques communes d'exposition géographique (ex : aéroport, lieu de travail, lieu d'habitation).

Après avoir validé les informations du déclarant, l'ARS doit faire remonter ce signalement sans délai à l'InVS et au département des urgences sanitaires de la DGS. Après avis de l'InVS, le DUS confirme ou infirme la possible origine malveillante. Si une possible origine malveillante est suspectée, l'ARS informe alors le procureur de la République.

6.2. La notification

La notification est une procédure de transmission de données individuelles par le médecin ou le biologiste déclarant à l'ARS du lieu d'exercice au moyen d'une fiche spécifique à chaque maladie.

Pour le botulisme, cette fiche est accessible à l'adresse internet suivante :

http://www.invs.sante.fr/surveillance/mdo/fiches/fiche_botulisme.pdf

Cette procédure est concernée par la protection renforcée de l'anonymat des personnes.

7. Références

Loi du 1er juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme

Décret n°99-363 du 6 mai 1999 fixant la liste des maladies faisant l'objet d'une déclaration obligatoire (Journal officiel du 13 mai 1999) complété par :

- le décret n°2001-910 du 5 octobre 2001 (Journal officiel du 8 octobre 2001)

- le décret n°2002-1089 du 7 août 2002 (Journal officiel du 11 août 2002)

- décret n°99-362 du 6 mai 1999 modifié par le décret n°2001-437 du 16 mai 2001 fixant les modalités de transmission à l'autorité sanitaire de données individuelles concernant les maladies visées à l'article L. 3113-1 du code de la santé publique et modifiant les articles R.11-2 et R.11-3 du code de la santé publique (Journal officiel du 23 mai 2001)

CDC. Botulism, control measures overview for clinicians. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, October 2006. Disponible sur : <http://www.bt.cdc.gov/agent/Botulism/clinicians/control.asp>

CDC. Botulism, treatment overview for clinicians. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, October 2006. Disponible sur : <http://www.bt.cdc.gov/agent/Botulism/clinicians/treatment.asp>

GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.8	DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE CHEZ LE PATIENT SUSPECT DE BOTULISME	Septembre 2010
--	---	-----------------------

OBJECTIF

PRECISER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES DU *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* AINSI QUE LES DIFFERENTS TYPES DE PRELEVEMENT ET ANALYSES BIOLOGIQUES UTILISEES POUR LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE CHEZ L'HOMME.

1. Fondamentaux

- *Clostridium botulinum* est la bactérie responsable du botulisme.
- Le diagnostic peut être fait par mise en évidence de la toxine et/ou par isolement et identification de la bactérie.
- L'isolement du germe d'un aliment en l'absence de toxine est insuffisant pour porter le diagnostic.

Principales caractéristiques bactériologiques :

- Bacille mobile, rarement isolé chez l'homme (pathogénicité liée à la production de toxines : il s'agit dans la plupart des cas d'une intoxication)
- Hétérogénéité des souches de *Clostridium botulinum* d'après leurs caractères culturels, biochimiques et génétiques : classement en 4 groupes
 - o Groupe I : bactéries protéolytiques, lipolytiques, fermentant glucose, fructose (+/-), maltose (+/-), température optimale de croissance entre 35 et 40°C, température minimale de croissance et de toxinogénèse d'environ 10°C, thermorésistance élevée des spores, réduction de la population de spores de 10^{12} par chauffage à 121°C pendant 3 minutes, production de toxines de type A, B ou F
 - o Groupe II : bactéries non protéolytiques, lipolytiques, glucidolytiques, fermentant les sucres (glucose, fructose, mannose, maltose, saccharose, tréhalose), température optimale de croissance comprise entre 18 et 37°C, température minimale de croissance de 3°C et température minimale de toxinogénèse de 6°C, thermorésistance des spores relativement faible, réduction de la population des spores de 10^6 par chauffage à 90°C pendant 10 minutes, production de toxines de type E, B ou F
 - o Groupe III : bactéries non protéolytiques, lipolytiques, fermentant glucose, fructose (+/-), mannose, maltose (+/-), température de croissance optimale de 40°C, température minimale de croissance et de toxinogénèse d'environ 15°C, spores thermorésistantes capables de résister à des températures supérieures à 100°C, production de neurotoxines de type C ou D
 - o Groupe IV : bactéries protéolytiques, non lipolytiques, non glucidolytiques, température optimale de croissance de 37°C, spores thermorésistantes, production de toxines G
- pH minimal de croissance 4.6-4.8 pour les bactéries protéolytiques, environ 5 pour les non protéolytiques
- pH maximal de croissance et de toxinogénèse environ 8-9
- 7 variétés antigéniques différentes : A, B, C, D, E, F et G
- Production d'un seul type de toxine botulique par souche (sauf quelques cas exceptionnels)
- A, B et E sont les plus couramment associées à la maladie humaine
- La toxine botulique est synthétisée sous une forme inactive par la bactérie au cours de sa croissance. La toxine est activée par protéolyse.

Mode d'action des neurotoxines botuliques

- Ingestion de la toxine ou production in vivo puis passage par transcytose d'une muqueuse (le plus fréquemment à partir de la lumière intestinale)
- Diffusion dans l'organisme par la circulation sanguine et lymphatique (d'où le diagnostic biologique possible chez l'homme par mise en évidence de la neurotoxine dans le sérum et l'intérêt d'un prélèvement précoce avant mise en place d'un traitement spécifique)

Préalable

Les prélèvements biologiques visant à mettre en évidence l'existence de la toxine botulique sont à mettre en œuvre dès l'admission du patient et avant administration de toute thérapeutique (immunoglobulines anti botuliques, prostigmine ou atropine en particulier).

2. Circonstances

Clinique : voir fiche 2.3 et toujours accompagner la demande d'analyse de la description des signes cliniques.

Diagnostic biologique utile pour :

- confirmer le diagnostic clinique
- identifier le type antigénique de la toxine

Ce diagnostic est indispensable, en cas d'acte malveillant ou de formes naturelles, lors de l'hospitalisation des premiers cas. En revanche, quand le diagnostic est posé et le type de toxine identifié, il n'est pas utile, pour la prise en charge du patient, de répéter le diagnostic biologique pour chaque nouveau patient, la clinique suffit.

Toutefois, le diagnostic biologique conserve un intérêt médico-légal ou scientifique (les prélèvements peuvent alors être conservés et analysés ultérieurement). Cela évite la saturation du réseau de laboratoires et sécurise les personnels manipulant les prélèvements.

3. Précautions préalables

En cas de recherche dans le sérum, prélever le sang chez le patient avant administration de toute thérapeutique (immunoglobulines anti botuliques, prostigmine ou atropine en particulier).

4. Matériel nécessaire :

Tubes secs (sans anticoagulant)

Sacs réfrigérants pour transport des tubes de prélèvements

Pots à coproculture (utilisables également pour les prélèvements de liquide gastrique...)

5. Protocole de mise en évidence

Protocole de mise en évidence de la toxine

a. Prélèvements :

Sérum : utiliser un tube sec (sans anticoagulant) ou tub gel + activateur de coagulation. Faire le prélèvement dès l'apparition des premiers symptômes (voir fiche diagnostic clinique). Prélever au moins 20 ml de sang total, quantité nécessaire de sang afin de pouvoir récupérer 10ml de sérum pour le test de la souris.

Fécès : placer l'échantillon –entre 10 et 50g- dans un pot à coproculture. Etiqueter le contenant.

Liquide gastrique ou vomissures : placer 20 ml dans un pot à coproculture.

Toujours accompagner la demande d'analyse d'une description des signes cliniques que présente le patient.

- b. Test de séroneutralisation chez la souris : test de référence qui confirme le diagnostic et identifie le type de toxine en cause.

Il peut être réalisé sur sérum, fèces, vomissures ou prélèvements gastriques.

La mise en évidence de la toxine dans le sérum réalisée in vivo chez la souris apporte la preuve définitive du diagnostic.

Ce test est réalisé au CNR

Le résultat est obtenu en 24 à 48h.

Ce test bénéficie d'une bonne sensibilité et permet de détecter des concentrations de 10 à 20 pg/ml. Un résultat négatif n'exclut pas obligatoirement le diagnostic de botulisme (seuil de détection à prendre en compte).

Protocole de mise en évidence de la bactérie

L'identification de *Clostridium botulinum* est importante pour l'enquête épidémiologique (origine de la contamination) mais ne permet pas de préjuger d'une intoxication ou non.

- a. Prélèvements : fèces, liquide gastrique ou vomissures (pour respecter les conditions optimales d'anaérobiose, il est conseillé de remplir au maximum les contenants). Les prélèvements bactériologiques d'une plaie mettant en évidence le germe en culture sont également très en faveur du diagnostic.
- b. La détection de *Clostridium botulinum* dans un prélèvement est effectuée par culture d'enrichissement (48h en anaérobiose) suivie d'une extraction d'ADN et analyse par PCR ciblée sur les gènes codant les neurotoxines botuliques.

La mise en évidence de la toxine ou du germe dans les vomissures, le liquide gastrique ou les selles est très en faveur du diagnostic car le portage intestinal est rare. Afin d'isoler *Clostridium botulinum* dans les différents types de prélèvement ci-dessus mentionnés, les échantillons doivent être mis en culture en milieu anaérobie. Les résultats sont en général disponibles dans un délai de 7 à 10 jours avec des délais maxima possibles entre 5 et 21 jours. La production de toxine par le clostridium ainsi isolé dans le milieu de culture est ensuite confirmée par le test de séroneutralisation chez la souris.

Centre national de référence (CNR)

Les prélèvements doivent être envoyés au CNR dont les coordonnées sont mentionnées ci-dessous :

CNR DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
INSTITUT PASTEUR
25/28 RUE DU DOCTEUR ROUX
75724 PARIS CEDEX 15
TEL : 01 45 68 83 10
FAX : 01 40 61 31 23

Ils doivent être accompagnés d'une fiche disponible sur le site internet de l'Institut Pasteur www.pasteur.fr/sante/clre/chap/sommair1.html, désignée sous le nom de « Fiche d'accompagnement de prélèvement pour le diagnostic du botulisme humain ».

6. Références :

Afssa, fiche de description de danger transmissible par les aliments : *Clostridium botulinum*

American Society for Microbiology, Sentinel laboratory guidelines for suspected agents of bioterrorism Botulinum Toxin, p 1-11

CDC, Botulism in the United States 1899-1996, Handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers, 1998

GUIDE TOXINES Toxine Botulique Fiche n°2.9	DETECTION BIOLOGIQUE DANS DES ECHANTILLONS D'ALIMENTS	Septembre 2010
--	---	-----------------------

OBJECTIF

PRECISER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES DE *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* AINSI QUE LES DIFFERENTS TYPES DE PRELEVEMENT ET ANALYSES BIOLOGIQUES UTILISEES POUR LA RECHERCHE DE LA SOURCE DE LA CONTAMINATION D'ALIMENTS.

1. Fondamentaux

- *Clostridium botulinum* est la bactérie responsable du botulisme.
- En l'absence d'une source alimentaire identifiée, des recherches peuvent être effectuées sur plusieurs échantillons.
- La détection peut être faite par mise en évidence de la toxine et/ou par isolement et identification de la bactérie. Cependant, la mise en évidence du germe dans un aliment en l'absence de toxine est insuffisante pour porter le diagnostic.

Principales caractéristiques bactériologiques :

- Bacille mobile, rarement isolé chez l'homme (pathogénicité liée à la production de toxines : il s'agit dans la plupart des cas d'une intoxication)
- Hétérogénéité des souches de *Clostridium botulinum* d'après leurs caractères culturels, biochimiques et génétiques : classement en 4 groupes
 - o Groupe I : bactéries protéolytiques, lipolytiques, fermentant glucose, fructose (+/-), maltose (+/-), température optimale de croissance entre 35 et 40°C, température minimale de croissance et de toxinogénèse d'environ 10°C, thermorésistance élevée des spores, réduction de la population de spores de 10^{12} par chauffage à 121°C pendant 3 minutes, production de toxines de type A, B ou F
 - o Groupe II : bactéries non protéolytiques, lipolytiques, glucidolytiques, fermentant les sucres (glucose, fructose, mannose, maltose, saccharose, tréhalose), température optimale de croissance comprise entre 18 et 37°C, température minimale de croissance de 3°C et température minimale de toxinogénèse de 6°C, thermorésistance des spores relativement faible, réduction de la population des spores de 10^6 par chauffage à 90°C pendant 10 minutes, production de toxines de type E, B ou F
 - o Groupe III : bactéries non protéolytiques, lipolytiques, fermentant glucose, fructose (+/-), mannose, maltose (+/-), température de croissance optimale de 40°C, température minimale de croissance et de toxinogénèse d'environ 15°C, spores thermorésistantes capables de résister à des températures supérieures à 100°C, production de neurotoxines de type C ou D
 - o Groupe IV : bactéries protéolytiques, non lipolytiques, non glucidolytiques, température optimale de croissance de 37°C, spores thermorésistantes, production de toxines G
- pH minimal de croissance 4.6-4.8 pour les bactéries protéolytiques, environ 5 pour les non protéolytiques
- pH maximal de croissance et de toxinogénèse environ 8-9
- 7 variétés antigéniques différentes : A, B, C, D, E, F et G.
- A, B et E sont les plus couramment associées à la maladie humaine
- Production d'un seul type de toxine botulique par souche (sauf quelques cas exceptionnels).

- La toxine botulique est synthétisée sous une forme inactive par la bactérie au cours de sa croissance. La toxine est activée par protéolyse.

2. Précautions préalables

Un « plan de recherche » doit être établi en concertation avec l'InVS, l'Afssa et les services vétérinaires pour déterminer les aliments à cibler en priorité.

De ce fait, il est nécessaire d'assurer un suivi des prélèvements et des analyses au plus près du terrain, au niveau local, voire national (ARS/Services vétérinaires et DGS/DGAL).

3. Circonstances

Détection dans des échantillons d'aliments ou de boissons pour :

- Déterminer la source de la contamination.
- Identifier le type antigénique de la toxine (dans certains cas, le diagnostic biologique ne peut conclure avec certitude).

Détection indispensable, en cas d'acte malveillant ou de formes naturelles, lors de l'hospitalisation des premiers cas, afin de déterminer avec exactitude la source de la contamination si celle-ci est alimentaire. Dans cette situation, le CNR Botulisme risquant d'être saturé par les demandes, il est nécessaire de répartir les demandes d'analyses vers les laboratoires vétérinaires en capacité de réaliser ce type d'analyse (régulation DUS/DGAL en concertation avec le CNR).

4. Matériel nécessaire :

Contenants stériles et étanches

Sacs réfrigérants pour transport des tubes de prélèvements

5. Protocole de mise en évidence

Protocole de mise en évidence de la toxine

- Prélèvements :

Quelques grammes de l'aliment suspect (de 5 à 50 grammes) dans un récipient (contenants stériles et étanches par exemple).

Aliment suspect : en priorité, les restes de l'aliment consommé par le malade.

- Test de séroneutralisation chez la souris : test de référence qui confirme le diagnostic et identifie le type de toxine en cause.

Les résultats sont obtenus en 24 à 48h.

Ce test bénéficie d'une bonne sensibilité et permet de détecter des concentrations de 10 à 20 pg/ml.

Protocole de mise en évidence de la bactérie

- Prélèvements : quelques grammes de l'aliment suspect dans un récipient étanche (contenants stériles et étanches par exemple).
- La détection de *Clostridium botulinum* dans un prélèvement est effectuée par culture d'enrichissement (48h en anaérobiose) suivie d'une extraction d'ADN et analyse par PCR ciblée sur les gènes codant les neurotoxines botuliques.

Les échantillons doivent être mis en culture en milieu anaérobie. Les résultats sont en général disponibles dans un délai de 7 à 10 jours avec des délais maxima possibles entre 5 et 21 jours. La production de toxine par le *Clostridium* ainsi isolé dans le milieu de culture est ensuite confirmée par le test de séroneutralisation chez la souris.

Laboratoires en capacité de réaliser la détection de la toxine botulique ou de *Clostridium botulinum* dans les aliments :

Centre national de référence (CNR)

Les prélèvements doivent être envoyés au CNR dont les coordonnées sont mentionnées ci-dessous :

CNR DES BACTERIES ANAEROBIES ET DU BOTULISME
INSTITUT PASTEUR
25/28 RUE DU DOCTEUR ROUX
75724 PARIS CEDEX 15
TEL : 01 45 68 83 10
FAX : 01 40 61 31 23

Ils doivent être accompagnés d'une fiche disponible sur le site internet de l'Institut Pasteur www.pasteur.fr/sante/clre/chap/sommair1.html, désignée sous le nom de « Fiche d'accompagnement de prélèvement pour le diagnostic du botulisme humain ».

6. Références :

Afssa, fiche de description de danger transmissible par les aliments : *Clostridium botulinum*

American Society for Microbiology, Sentinel laboratory guidelines for suspected agents of bioterrorism Botulinum Toxin, p 1-11

CDC, Botulism in the United States 1899-1996, Handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers, 1998

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxine Botulique</p> <p>Fiche n°2.10</p>	<p>EMBALLAGE DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES POUVANT CONTENIR DES MATIERES POTENTIELLEMENT INFECTIEUSES/DANGEREUSES</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	---	------------------------------

OBJECTIF

EMBALLER LES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES POUR ASSURER LA SECURITE DU TRANSPORT DE MATIERES POTENTIELLEMENT INFECTIEUSES/DANGEREUSES VERS LE LABORATOIRE DE REFERENCE OU LE CNR.

1. Fondamentaux

- Importance du signalement précoce aux autorités sanitaires pour la conduite de l'enquête épidémiologique et la prise de mesures de gestion adaptées que le botulisme soit d'origine naturelle (recherche de la source de contamination) ou d'origine malveillante.
- La confirmation du diagnostic de botulisme par le centre national de référence est nécessaire.
- Les prescriptions pour l'emballage sont fixées par l'ONU et figurent dans les réglementations de l'OACI et de l'IATA au titre des Instructions d'emballage 602 et 650. En pratique, les échantillons biologiques suspects de contenir la toxine botulique ou *Clostridium botulinum* doivent être transportés en triple emballage conforme à l'instruction P 650. L'emballage extérieur doit porter le numéro UN 3373.
- Elles sont sujettes à des modifications et à des mises à jour par ces organisations. Des emballages agréés par l'ONU sont disponibles dans le commerce.
- Les prélèvements biologiques suspectés de contenir des matières potentiellement infectieuses/dangereuses doivent être transportés avec le système de base du triple emballage de sécurité (l'agrément ONU de ces emballages n'est cependant pas requis).
- Dans le cas précis du botulisme, il est nécessaire de disposer les échantillons dans un emballage isotherme ou contenant des sacs réfrigérants.
- Les échantillons doivent être envoyés le plus rapidement possible mais, à défaut, doivent être conservés à +4°C avant l'envoi, au maximum 3 à 4 jours.

2. Circonstances :

Dans le cas du botulisme, la confirmation biologique du diagnostic clinique par le centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme est nécessaire (Institut Pasteur de Paris), notamment pour déterminer le sérotype responsable.

Tous les prélèvements doivent être envoyés dans des emballages sécurisés réglementaires et doivent être accompagnés d'une fiche disponible sur le site internet de l'Institut Pasteur www.pasteur.fr/sante/clre/chap/sommair1.html, désignée sous le nom de « Fiche d'accompagnement de prélèvement pour le diagnostic du botulisme humain ».

3. Précautions préalables :

Il est recommandé au personnel emballant les échantillons d'appliquer les précautions d'usage pour se prémunir d'un accident d'exposition au sang.

4. Matériel nécessaire :

Un triple emballage répondant aux instructions d'emballage 650 est constitué :

- d'un récipient primaire étanche contenant l'échantillon prélevé ;
- d'un emballage secondaire étanche contenant une mousse absorbante ;
- d'un emballage extérieur suffisamment résistant dont la plus petite dimension extérieure ne doit pas être inférieure à 10 cm.

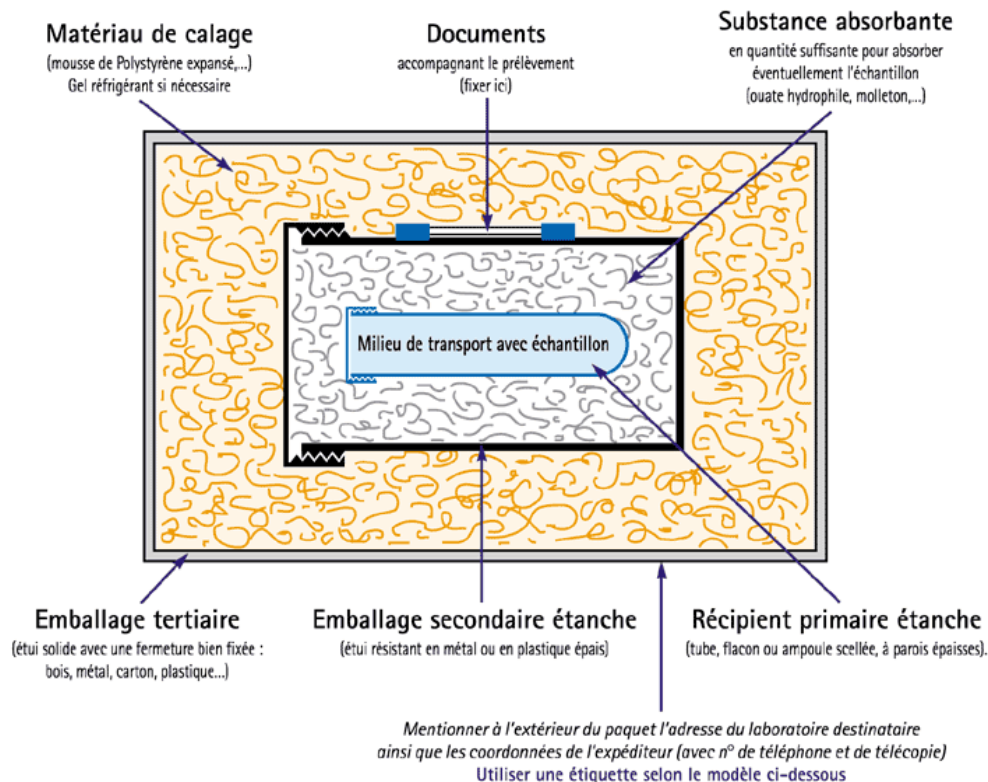
5. Protocole :

Pour le botulisme il est nécessaire de disposer les échantillons, quel qu'en soit le type, dans un emballage contenant des sacs réfrigérants. Il est conseillé d'utiliser de préférence un emballage isotherme en polystyrène.

Réalisation du triple emballage :

- Identifier le récipient primaire avec un feutre à encre indélébile ;
- l'essuyer avec une compresse imprégnée de liquide de Dakin ;
- le placer tête en haut dans la mousse absorbante protectrice du récipient secondaire. Si plusieurs récipients primaires sont placés dans un emballage secondaire unique, ils doivent être enveloppés individuellement pour éviter tout contact entre eux ;
- la mousse doit être en quantité suffisante pour absorber la totalité du contenu des récipients primaires en cas de rupture ;
- fermer hermétiquement l'emballage secondaire (bouchon correctement vissé) ;
- placer l'emballage secondaire dans l'emballage extérieur cartonné ;
- glisser l'enveloppe de renseignement dans la poche interne.

Schéma simplifié d'un triple emballage (selon normes de la classe 6.2. de l'O.N.U.)



6. Références :

Guide sur la sécurité du transport des matières infectieuses et des échantillons de diagnostic. OMS, division des maladies émergentes et autres maladies transmissibles, 1997.

Abrutyn E. Botulisme. In : Harrison TR. Principes de Médecine Interne 14 ed française, Flammarion Médecine-Sciences, Paris 2000 ; 1046-1049

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

CDC. Botulism in the United States, 1899--1996: handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 1998. Disponible sur <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/files/botulism.pdf>

GUIDE TOXINES	PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE	Septembre 2010
Fiche n°2.11		

OBJECTIF

PRECISER LE TRAITEMENT SYMPTOMATIQUE D'UNE INTOXICATION PAR LA TOXINE BOTULIQUE

1. Fondamentaux

- Les toxines botuliques sont des substances protéiques produites par des bactéries anaérobies du genre *Clostridium*. Il existe sept types antigéniques désignés par des lettres de A à G ;
- Les toxines botuliques sont les plus puissants des poisons actuellement connus ;
- La maladie naturelle résulte le plus souvent de la consommation d'aliments contaminés, rarement de la contamination de blessures cutanées souillées par la bactérie. La toxine ne passe pas au travers d'une peau intacte ;
- Utilisées comme arme biologique les toxines sont dispersées par aérosol, inhalées par voie respiratoire, elles passent ensuite dans la circulation sanguine ;
- Les symptômes apparaissent quelques heures après l'absorption de la toxine. Une contamination massive peut être à l'origine d'un arrêt cardio-respiratoire brutal sans prodrome. Classiquement le botulisme est caractérisé par des signes oculaires (mydriase, presbytie aiguë) et un tableau de paralysie descendante bilatérale et symétrique sans fièvre associée à des signes digestifs (sécheresse buccale et parésie gastro-intestinale) ;
- La maladie n'est pas contagieuse.

2. Traitement

Le traitement du botulisme et sa surveillance impliquent une hospitalisation.

2.1. Le traitement symptomatique

- Surveillance cardiaque et respiratoire (en milieu de réanimation).

Ainsi, dans le cadre des travaux de planification de Biodéfense visant à décliner ce guide au niveau opérationnel, il est recommandé de recenser à l'échelon départemental les capacités d'hospitalisation en soins continus et en réanimation pour les secteurs adultes et enfants, ainsi qu'un état des lieux du parc de respirateurs et de prévoir une consolidation au niveau, régional puis zonal

Ce travail pourra s'appuyer sur les travaux de recensement menés dans le cadre des SROS.

2.2. Le traitement curatif

- Des immunoglobulines anti-botuliques heptavalentes (A, B, C, D, E, F, G), trivalentes (A, B, E) et des immunoglobulines divalentes (A et B) peuvent permettre un traitement spécifique du botulisme.

3. Référence

Fiche Biotox Afssaps n°8, « Toxine botulique »

GUIDE TOXINES Ricine Fiche n°3.1	GENERALITES	Septembre 2010
--	--------------------	-----------------------

OBJECTIF

RAPPELER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA MENACE LIEE A LA RICINE.

1. Fondamentaux

Généralités sur la ricine :

- La ricine, toxine glycoprotéique produite par le ricin (*Ricinus communis*), est contenue principalement dans ses graines (1 à 5% du poids de la graine) ;
- La ricine est présente dans l'endosperme de la graine, sa concentration est optimale lorsque la graine arrive à maturité ;
- La culture commerciale du ricin est répandue dans les régions tropicales et subtropicales, surtout au Brésil, en Equateur, Haïti, Ethiopie, Inde, Thaïlande ;
- Les graines sont récoltées en quantités massives pour en extraire l'huile de ricin (connue aussi sous le nom de Castor oil), encore largement utilisée comme composant de peintures/vernis ou comme lubrifiant industriel.
- Le ricin est aussi couramment utilisé comme plante ornementale dans les régions tempérées et les graines sont en vente libre dans les commerces de jardinage ;
- La ricine peut facilement être extraite de la graine du ricin, ce qui fait de cette dernière un bon candidat pour une utilisation malveillante. Ainsi, le moût résiduel après extraction de l'huile contient une grande quantité de toxine qui peut en être facilement extraite et purifiée. La ricine purifiée a l'aspect d'une poudre blanche soluble dans l'eau ;
- Sa toxicité est relativement stable et résistante aux variations de pH et de température ;
- La graine de ricin présente également une toxicité importante (5 graines seraient suffisantes pour tuer une personne adulte) ;
- Pas de transmission inter-humaine.
- Par ailleurs la graine de ricin contient 3 autres molécules d'intérêt :
 - i. L'hémagglutinine, protéine tétramérique qui agglutine naturellement les hématies humaines.
 - ii. La ricinine, alcaloïde qui peut être recherché dans l'urine lorsqu'une intoxication à la ricine est suspectée
 - iii. La 2 S albumine, une protéine responsable d'allergies chez les personnes travaillant à la production d'huile de ricin

Mode d'action de la ricine

- La toxine est constituée de 2 chaînes polypeptidiques, A et B, reliées par un pont disulfure ;
- La chaîne B est une lectine qui se fixe sur des glycoprotéines et glycolipides présents en surface de la plupart des cellules, facilitant l'endocytose de la toxine et, *in fine*, l'accès de la chaîne A au cytosol ;
- La toxicité est portée par la chaîne A, qui possède une activité enzymatique inactivant les ribosomes, aboutissant à une inhibition des synthèses protéiques et à la mort cellulaire. La toxicité serait également liée à une altération directe des membranes cellulaires et à la production de cytokines inflammatoires ;
- les symptômes et les lésions dépendent largement de la voie de contamination. Cette dépendance résulterait d'une fixation rapide de la ricine aux cellules rencontrées, sans sélectivité pour des cellules spécifiques ;

- Après ingestion de la toxine, la toxine va pénétrer dans l'organisme par transcytose d'une muqueuse (le plus fréquemment à partir de la lumière intestinale), puis se fixer à un récepteur membranaire et entrer dans la cellule par endocytose ;
- Cibles des toxines : n'importe quelle cellule.

Toxicité de la ricine

- Elle est toxique aussi bien par ingestion que par inhalation ;
- La ricine est beaucoup moins toxique que la toxine botulique A (tox bot A 30000 fois plus toxique que la ricine). Cependant, la ricine est 1011 fois plus toxique que le cyanure de sodium ;
- Dose létale minimale chez l'homme par voie orale : estimée;
- La Dose létale minimale chez l'homme est mal connue. Par voie orale, le chiffre le plus cité dans la littérature scientifique est de 1 mg/kg (6-10 µg/kg par inhalation ; chiffres extrapolés d'études sur le singe) ;
- La graine est également toxique (la dose mortelle serait d'environ 3 graines chez l'enfant et une dizaine chez l'adulte) si elle est mastiquée ;
- Lors de l'extraction de l'huile de ricin, la ricine reste dans les résidus, les tourteaux qui sont donc très toxiques. Ces résidus sont inactivés par chauffage.

Inactivation et Destruction

- Inactivation de la toxine au cours de la cuisson à une température de 100°C pendant 10 minutes et ceci quelle que soit la matrice
- Dégradation de la ricine par le chlore : en 20 minutes à une concentration en chlore libre de 100 mg/ml

6. Références

Audi J., Belson M., Patel M., Schier J., Osterloh J. Ricin Poisoning, a comprehensive review. JAMA 2005, 294 (18) 2342 – 2351

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

Bigalke H, Rummel A. Medical aspects of toxin weapons. Elsevier, Toxicology 214 (2005), 210-220.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Ricine</p> <p>Fiche n°3.2</p>	<p>VOIES DE CONTAMINATION</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	--------------------------------------	------------------------------

OBJECTIF

PRESENTER LES DIFFERENTES VOIES DE CONTAMINATION POSSIBLES QU'ELLES SOIENT D'ORIGINE NATURELLE OU MALVEILLANTE.

1. Fondamentaux

- La toxicité des graines de ricin est connue depuis l'Antiquité, et plus de 750 cas d'intoxication par ingestion (suicidaire ou accidentelle) ont été décrits ;
- La ricine a été produite sous forme militarisée (aérosolisable) par les Etats-Unis à la fin des années 40, et par l'Irak à la fin des années 80, et testée chez l'animal en laboratoire et dans des expérimentations de terrain.
- En 2003 et 2004 aux Etats-Unis, de la ricine en poudre a été retrouvée dans un centre de tri postal, dans le bureau de courrier d'un sénateur, et dans une lettre adressée à la Maison Blanche ;
- La ricine, toxine glycoprotéique produite par le ricin (*Ricinus communis*), est contenue principalement dans ses graines (1 à 5% du poids de la graine) ;
- La culture commerciale du ricin est répandue dans les régions tropicales et subtropicales, surtout au Brésil, en Equateur, Haïti, Ethiopie, Inde, Thaïlande ;
- Les graines sont récoltées en quantités massives pour en extraire l'huile de ricin (connue aussi sous le nom de « Castor oil »), encore largement utilisée comme composant de peintures/vernis ou comme lubrifiant industriel.
- Le moût résiduel après extraction de l'huile contient de grandes quantités de toxine qui peut en être facilement extraite et purifiée ;
- Le ricin est aussi couramment utilisé comme plante ornementale dans les régions tempérées et les graines sont en vente libre dans les commerces de jardinage ;
- La ricine peut être préparée sous forme d'extrait végétal brut ou sous forme purifiée. Ainsi, selon le procédé de préparation et les compétences du « préparateur » elle pourra être obtenue sous forme de poudre ou de solution aqueuse. Il est possible d'obtenir en laboratoire en une seule étape 180 mg de ricine pure à partir de 100 g de graines de ricin ;
- L'obtention d'une poudre « aérosolisable » de ricine susceptible de contaminer des personnes (fine particule de quelques μm) reste toutefois très difficile et requiert de très bonnes compétences techniques ;
- La ricine est peu persistante dans l'environnement, mais un aérosol composé de fines particules (1 à quelques microns) pourrait rester en suspension dans un air calme pendant plusieurs heures, néanmoins la stabilité dans l'air en conditions extérieures devrait être diminuée en présence de rayonnement UV ;
- L'aérosolisation peut être effectuée à partir de toxine sous forme liquide ou sous forme de poudre, a priori les modes de dispersion avec dégagement de chaleur pourraient entraîner une dégradation de la toxine ;
- Du fait de son niveau de toxicité, l'utilisation de la ricine par aérosolisation est plus adaptée à la contamination d'espace confiné ; une dispersion en milieu ouvert étant susceptible de n'entraîner aucun effet.
- La ricine purifiée à l'aspect d'une poudre blanche soluble dans l'eau ;
- Sa toxicité est relativement stable et résistante aux variations de pH et de température ;
- Une remise en suspension de telles particules déposées sur des surfaces pourrait éventuellement survenir.

Ainsi, les voies de contamination possibles vont dépendre de l'état physique de la toxine et de son mode de dissémination.

2. Voies de contamination

Mode de contamination naturelle :

- Une intoxication naturelle par ingestion de graine de ricin reste possible, en particulier chez les jeunes enfants ou les animaux de compagnies (les tourteaux de ricin ont le goût de la viande pour les chiens) même si aucun cas humain n'a été documenté en France.

Mode de contamination d'origine malveillante :

- Par l'alimentation lors de l'ingestion de graines de ricin ou de produits contaminés avec de la ricine (aliments, eau de boisson) ;
- Par inhalation d'une forme aérosolisée, dans la mesure où la ricine peut être délivrée sous forme d'aérosol ; la ricine est capable de traverser la barrière des cellules épithéliales pulmonaires ;
- Par injection parentérale directe ; une injection parentérale (intramusculaire/sous-cutanée) de ricine a été utilisée notamment dans l'assassinat du dissident bulgare Georgi Markov à Londres en 1978. Cette technique aurait été utilisée dans au moins six autres tentatives d'assassinat entre 1975 et 1985.

Mode de contamination volontaire :

- Plusieurs cas d'injection volontaire de ricine ont été décrits :
 - i. Un chimiste de 36 ans s'est injecté une dose sub-létale de ricine par "curiosité scientifique" (Fine 92) ;
 - ii. Un jeune homme de 20 ans est décédé 18 heures après son admission à l'hôpital suite à une injection sous cutanée d'extraits de graines de ricin (Targosz et al 2002) ;
 - iii. Un cas de tentative de suicide par injection sous-cutanée du jus de 13 graines de ricin chez un homme de 53 ans a été récemment décrit (Passeron 2004) ;
 - iv. La toxine a été testée comme agent anticancéreux dans une étude clinique de phase I (Fodstad, 84).

3. Dose létale

- La Dose létale minimale chez l'homme est mal connue. Par voie orale, le chiffre le plus cité dans la littérature scientifique est de 1 mg/kg (6-10 µg/kg par inhalation (chiffres extrapolés d'études sur le singe) ; Elle varie d'un facteur 100 entre différents animaux de laboratoire et domestiques (parmi ceux testés, le poulet et la grenouille étaient les moins sensibles, le cheval l'était le plus).
- Dose létale médiane chez la souris et le singe par inhalation : 3 à 15 µg/kg.
- Dose létale médiane chez la souris par injection sous-cutanée : 24 µg/kg.

4. Impact de la voie de transmission sur la clinique de la maladie

Les cas humains rapportés et les études chez l'animal montrent que les symptômes et les lésions dépendent largement de la voie de contamination. Cette dépendance résulterait d'une fixation rapide de la ricine aux cellules rencontrées, sans sélectivité pour des cellules spécifiques.

- Inhalation chez le singe : période pré-clinique de 8 à 24 heures selon la dose, puis bronchopneumopathie nécrosante avec œdème inflammatoire alvéolaire et périfonchovasculaire.
- Ingestion chez l'homme : apparition en quelques heures de nausées, vomissements, douleurs abdominales, installation d'une gastro-entérite nécrosante et hémorragique.
- Injection intramusculaire/sous-cutanée : douleur locale quasi-immédiate, après un délai de quelques heures asthénie, fièvre, nausées-vomissements, adénopathies douloureuses loco-régionales, inflammation au point d'injection puis cellulite nécrosante, inflammation diffuse avec œdème induré.

5. Références

- Woods J, et al. (Ed) (2005) Ricin. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Casualties Handbook. USAMRIID, Fort Detrick, Maryland, USA, p. 93-6.
- Audi J., Belson M., Patel M., Schier J. and Osterloh J. (2005) Ricin poisoning: a comprehensive review. *JAMA* 294, 2342-51.
- Bigalke H. and Rummel A. (2005) Medical aspects of toxin weapons. *Toxicology* 214, 210-20.
- Poli M., Roy C., Huebner K., Franz D. and Jaax N. (2007) Ricin. In: Medical Aspects of Biological Warfare, Textbooks of Military Medicine - Department of Defense, Office of The Surgeon General, US Army, Borden Institute., p. 323-35.
- Winter C., 2004, Toxicity of Ricin, *Toxins review*,23, 97-103.
- Pignon A, Gardet V., Thefenne H, 2003, *médecine et armées*, 31,3, 208-211.
- Bradberry S.M, Dickers K.J., Rice P, Griffiths G.D, Vale J.A, 2003, Ricin poisoning, *Toxicol rev* 22,1,65-70.
- Fine DR, Shepherd HA, Griffiths GD, *et al.* Sub-lethal poisoning by self-injection with ricin. *Med Sci Law* 1992; 32: 70-2.
- Passeron T, Mantoux F, Lacour JP, *et al.* Infectious and toxic cellulitis due to suicide attempt by subcutaneous injection of ricin. *Br J Dermatol* 2004; 150: 154.
- Fodstad O, Kvalheim G, Godal A, *et al.* Phase I study of the plant protein ricin. *Cancer Res* 1984; 44: 862-5.
- Targosz D, Winnik L, Szkolnicka B. Suicidal poisoning with castor bean (*Ricinus communis*) extract injected subcutaneously –case report. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2002, 40, 398

GUIDE TOXINES	CLINIQUE	Septembre 2010
Ricine		
Fiche n°3.3		

OBJECTIF

DIAGNOSTIQUER CLINIQUEMENT ET PRECOCEMENT L'EXPOSITION A LA RICINE POUR PERMETTRE UNE PRISE EN CHARGE ADAPTEE.

1. Références

- L'intoxication peut survenir après ingestion (administration dans l'eau de boisson ou des aliments), inhalation (dispersion par aérosol) ou injection (cf. parapluie bulgare) selon la forme physique et la méthode de dissémination ;
- Les deux derniers modes d'exposition sont considérés comme les plus dangereux ;
- L'intoxication n'est pas contagieuse, sans risque de contamination d'homme à homme ;
- La dissémination par aérosol reste hypothétique et la taille des particules influence significativement la toxicité ; Chez l'animal on utilise des particules de moins de 10 µ, voire de 1µ qui sont les plus toxiques. Ces particules de quelques microns persistent dans l'atmosphère et peuvent donner lieu à un phénomène de remise en suspension à partir des dépôts sur les surfaces ;
- Aucun cas humain d'intoxication par ingestion de la ricine pure n'a été rapporté ;
- L'intoxication peut se manifester sous forme d'une gastroentérite ou d'une affection respiratoire ;
- La ricine n'est pas hémodialysable ;
- Période d'incubation courte dépendante de la dose de toxine incorporée et de la voie d'exposition : 8-10 heures (minimum : 3 heures / maximum 3 jours) ;
- La dose létale minimale chez l'homme est mal connue. Par voie orale, le chiffre le plus citée dans la littérature scientifique est de 1 mg/kg (6-10 µg/kg par inhalation ; chiffres extrapolés d'études sur le singe) ;

2. Clinique d'une intoxication à la ricine

- **Par ingestion** : dans les formes bénignes 4 à 6 heures voire 24 heures après l'exposition, nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales. Les formes plus sévères se présentent sous une forme de syndrome gastro-entéritique brutal, s'accompagnent d'hématémèse, de méléna, d'une hypotension ou collapsus par déshydratation, d'une insuffisance hépatique et rénale. L'examen post mortem retrouve des hémorragies intestinales diffuses, ulcération des muqueuses, aspect d'apoptose des cellules, nécrose hépatique, néphrite.
- **Par inhalation**, surtout si les particules sont de petite taille, les signes sont retardés de 8 à 24 heures : toux, dyspnée, arthralgies et fièvre. L'évolution peut se faire vers une détresse respiratoire et le décès.
L'exposition aérienne peut aussi se manifester dans un délai variant de quelques minutes à plusieurs heures sous forme d'une rhinite, d'une irritation oculaire (sensation de brûlure, larmoiement, conjonctivite plus ou moins sévère), d'une hyperréactivité des voies respiratoire.

- **Par injection**, les troubles surviennent en moins de 6 heures, associant une fatigue généralisée, des myalgies. En 24 à 36 heures, surviennent des vomissements, de la fièvre, une hypotension, puis une défaillance multi viscérale.

7. Diagnostic

- Il est difficile en l'absence de la notion d'exposition à la ricine ;
- Les formes digestives peuvent évoquer les gastroentérites infectieuses (anisakiasis, entérotoxines, germes pathogènes intestinaux), l'ingestion de substances irritantes (hydrocarbures, détergents), l'intoxication par certains champignons, certaines plantes, par des toxines algales ;
- Les défaillances multi viscérales évoqueront aussi certains métaux (arsenic, cuivre, plomb, cadmium), certains champignons (par ex amanita phalloïdes), des médicaments (colchicine, antimétaboliques), l'abrin, les septicémies ;
- Les formes respiratoires seront différenciées des expositions aux gaz irritants, aux fumées de soudure, au paraquat, à l'aldrine, aux infections à tropisme pulmonaire (peste, charbon, tularémie, fièvre Q, virus).

8. Références

Audi J., Belson M., Patel M., Schier J., Osterloh J. Ricin Poisoning, a comprehensive review. JAMA 2005, 294 (18) 2342 – 2351

Bradburry S., Dickers K., Rice P., Griffiths G., Vale A., Ricin poisoning. Toxicol Rev 2003, 22 (1): 65 – 70

Doan LG., Ricin: mechanisms of toxicity, Clinical manifestations and Vaccine development. A Review. J Toxicol Clin Toxicol 2004, 42 (2): 201 -208.

Spivak L., Hendrickson RG., Ricin. Crit Care Clin 2005, 21 (4) : 815 - 824

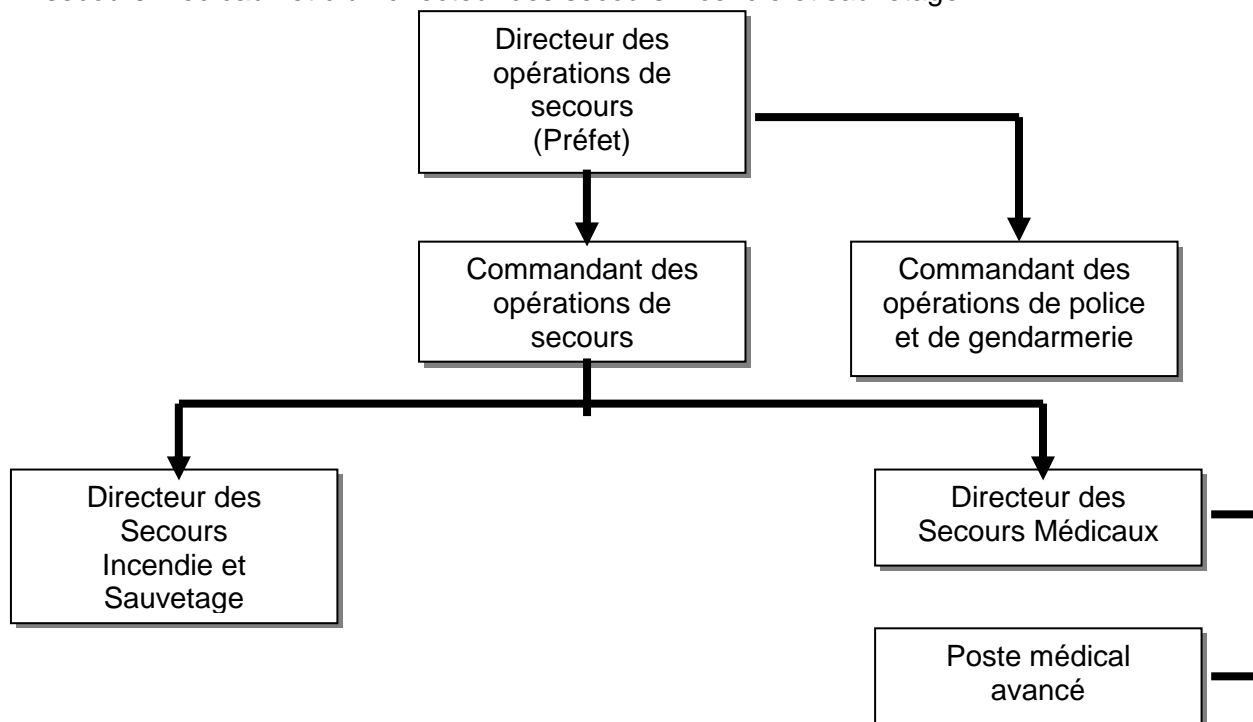
GUIDE TOXINES Ricine Fiche n°3.4	PRISE EN CHARGE DES PERSONNES EXPOSEES SUR LE LIEU D'UN ACTE MALVEILLANT PAR AEROSOLISATION	Septembre 2010
--	--	-----------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE LES PERSONNES EXPOSEES A UN AGENT BIOTERRORISTE DE FAÇON PRECOCE, LES EVACUER VERS UNE ZONE SAINNE DANS DE BONNES CONDITIONS DE SECURITE ET EMPECHER LA DISSEMINATION DE L'AGENT BIOLOGIQUE.

1. Fondamentaux

- Dans l'attente de la confirmation de la nature de l'attentat, les actions spécifiques au risque maximal (radiologique et chimique) sont engagées par les pompiers.
- Après la levée de doute, excluant un risque radiologique ou chimique, les mesures de protection pour le risque biologique maximal sont appliquées. Le délai nécessaire à l'identification de la ricine (environ 24 heures) implique le maintien de ces mesures durant la prise en charge sur le lieu de l'attentat des personnes exposées.
- La ricine est peu persistante dans l'environnement, mais un aérosol composé de fines particules (1 à quelques microns) pourrait rester en suspension dans un air calme pendant plusieurs heures, néanmoins la stabilité dans l'air en conditions extérieures devrait être diminuée en présence de rayonnement UV. Une remise en suspension de telles particules déposées sur des surfaces pourrait éventuellement survenir après perturbation.
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 4 à 24 heures
- La direction des opérations de secours relève du préfet représentant de l'Etat dans le département.
- Le commandement des opérations de secours relève du directeur des services d'incendie et de secours sous l'autorité du préfet avec l'appui d'un directeur de secours médicaux et d'un directeur des secours incendie et sauvetage.



2. Circonstances

- L'attentat est d'emblée revendiqué.
- Le lieu de l'attentat est connu.
- Le délai d'intervention des secours sur le lieu de l'attentat est compatible avec la prise en charge des personnes exposées avant leur dispersion.

3. Préalable pour les actes malveillants par aérosolisation

- Circonscrire le lieu de l'événement afin d'interdire toute entrée ou toute sortie non contrôlée du périmètre.
- Toujours respecter le principe de la marche en avant
- Identifier un point de regroupement des victimes situé au vent de la zone contaminée, et y acheminer les victimes.
- Définir des consignes de mise à l'abri pour les populations limitrophes.
- Alléger les moyens de protection initiaux (risque maximal) des intervenants en zone d'exclusion dès l'instant où les risques radiologique et chimique sont éliminés.
- Pour les actes malveillants en milieu fermé (exemple, salle de concert) : fermer les ouvrants (portes, fenêtres...) du ou des locaux concernés et arrêter les circuits de ventilation et de traitement de l'air.

4. Protocole de prise en charge des victimes

➤ En zone de danger ou d'exclusion

- Evacuation immédiate hors de la zone contaminée des sujets exposés par les pompiers revêtus d'un équipement de protection individuel NRBC, et regroupement à distance de sécurité, dans une zone propre, mais contaminable appelée zone contrôlée,
- Si le transfert ne peut se faire immédiatement, recenser et isoler les sujets exposés dans un local adjacent non contaminé (local qui devra être éventuellement décontaminé par la suite après identification de l'agent en cause). Ce local devient la zone contrôlée,
- Si des véhicules ou des brancards sont utilisés pour le transfert, ils doivent être protégés par des feuilles plastiques et ultérieurement, si nécessaire, être décontaminés (selon la nature de l'agent en cause),
- Port d'un masque FFP2 par les victimes (risque de ré-aérosolisation secondaire),
- Interdiction de fumer, boire ou manger.

➤ En zone de décontamination ou point de regroupement des victimes en zone contrôlée

- Matériel nécessaire :

Dès la levée de doute sur les risques radiologique et chimique, la tenue de protection du personnel en charge des sujets exposés est composée des éléments suivants :

- masque FFP2,
- calots ou charlottes à usage unique,
- lunettes de protection,
- surblouses à usage unique,
- paire de gants à usage unique,
- bottes ou à défaut surbottes,
- conteneurs DASRI.

- La prise en charge des personnes exposées inclut :
Une décontamination réalisée par les services d'incendie et de secours comportant plusieurs étapes : voir fiche 2-2 et 2-3 du guide PCT disponible sur le site du ministère de la santé.
- Des soins médicaux en cas d'urgence absolue (les autres soins étant effectués dans le poste médical avancé en zone de soutien) réalisés par le SAMU ou les médecins des services d'incendies et de secours quand leurs équipes sont médicalisées.

➤ **En zone de soutien ou « propre »**

Le personnel ne nécessite pas de protection particulière.

- Le directeur des secours médicaux, sous l'autorité du Commandant des Opérations de Secours (COS), met en œuvre l'installation du poste médical avancé (PMA) permettant :
 1. la prise en charge des personnes exposées dont l'état de santé le nécessite (essentiellement en raison de la décompensation de pathologies pré-existantes liée au stress de l'attentat),
 2. l'identification et la traçabilité des victimes et des impliqués (renseignement de la fiche de suivi élaborée par l'InVS),
 3. l'information des personnes exposées sur la conduite à tenir lors du retour au domicile :
 - Remise d'une fiche présentant les signes d'appel des principales pathologies pouvant être impliquées dans un attentat bioterroriste (peste, charbon, tularémie, variole, botulisme, ricine), la durée et les modalités de la surveillance et la conduite à tenir en cas d'apparition de ces premiers signes pour une prise en charge adaptée.
 - Recours au centre 15 pour la régulation en cas d'apparition de signes cliniques.
 - Recours au numéro vert (au niveau du département ou au niveau national quand plusieurs départements sont impliqués ou quand les capacités de réponse locales sont dépassées) pour répondre aux autres questions (voir fiche communication).
- La mise en place éventuelle d'un site de distribution des antibiotiques (SDA) pour l'ensemble des personnes exposées, après évaluation du risque par les autorités sanitaires (DUS).

La distribution d'antibiotiques s'impose quand l'agent n'a pu être identifié ou quand les agents de la peste, du charbon et de la tularémie sont en cause ou n'ont pas pu faire l'objet d'un diagnostic d'exclusion.

Voir fiche 4 du guide peste charbon tularémie, disponible sur le site internet du ministère de la santé.
- En cas de besoin, la mise en place d'une cellule d'urgence médico-psychologique (CUMP) permettant de proposer immédiatement aux personnes exposées une prise en charge adaptée.
- Information de l'ARS qui la relaie :
 1. sans délai, en appelant, les autorités sanitaires (préfet, CORRUSS pour le département des urgences sanitaires/DGS, Institut de veille sanitaire)
 2. par tout moyen approprié, auprès des directeurs d'établissement de santé à l'attention des services d'urgences, de réanimation, de maladies infectieuses, des laboratoires de microbiologie et des pharmacies.

➤ **Retour des personnes exposées à domicile** en l'absence de symptômes.

- **Recommandation d'une consultation systématique** du médecin traitant à 72 heures de l'exposition
- **Orientation vers les établissements de santé** en cas d'apparition de symptômes nécessitant une prise en charge clinique après régulation par le centre 15
- **Suivi des personnes exposées** assuré par l'InVS à l'aide d'une fiche de suivi renseignée sur le lieu de l'exposition.

3. Références

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

Woods J, et al. (Ed) (2005) Ricin. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Casualties Handbook. USAMRIID, Fort Detrick, Maryland, USA, p. 93-6.

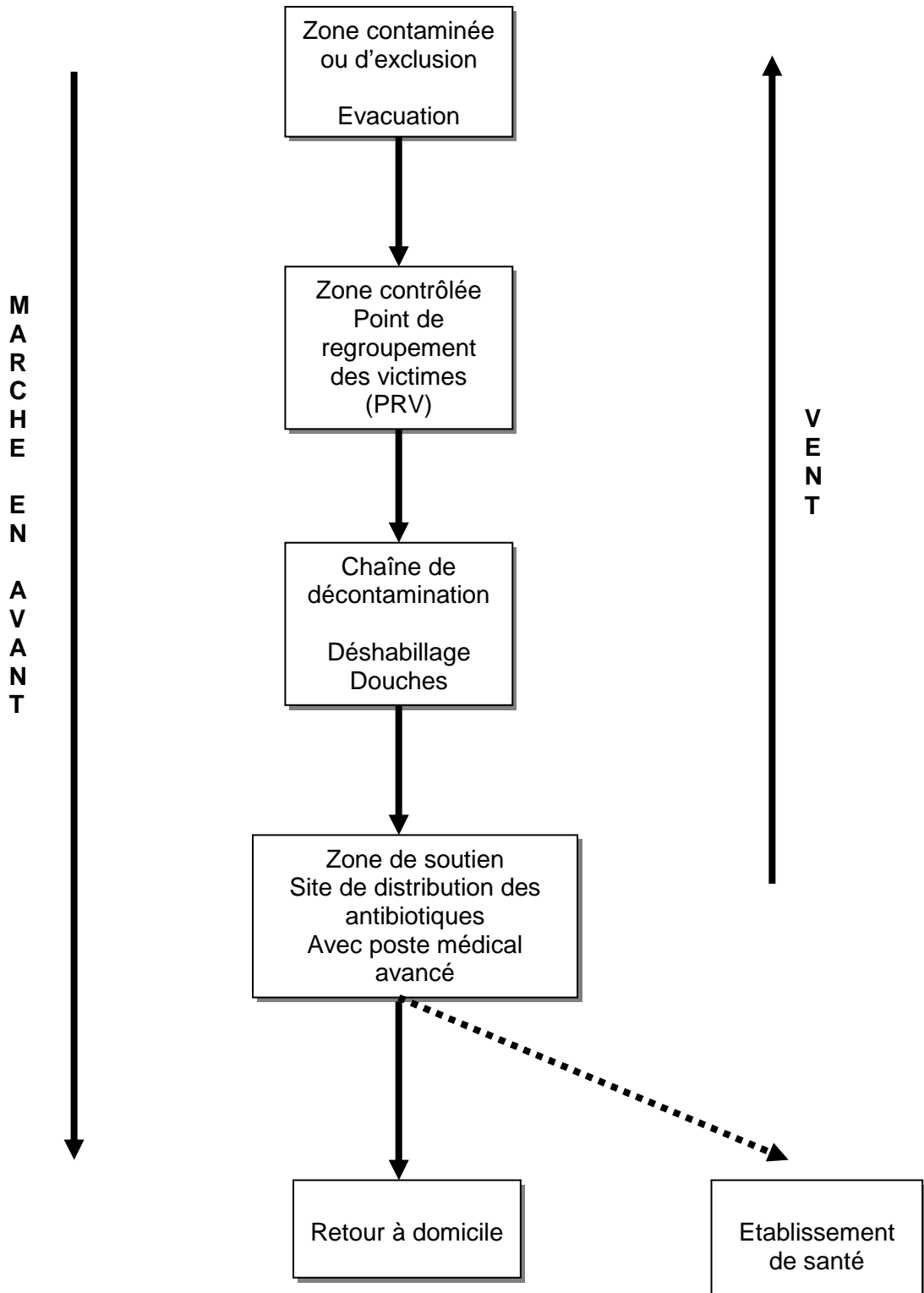
Audi J., Belson M., Patel M., Schier J. and Osterloh J. (2005) Ricin poisoning: a comprehensive review. JAMA 294, 2342-51.

Poli M., Roy C., Huebner K., Franz D. and Jaax N. (2007) Ricin. In: Medical Aspects of Biological Warfare, Textbooks of Military Medicine - Department of Defense, Office of The Surgeon General, US Army, Borden Institute., p. 323-35.

CDC and the Association for Practitioners in Infection Control and Epidemiology (APIC) "Bioterrorism Readiness Plan: A Template for Healthcare Facilities". Atlanta, Georgia and Washington. 1999.

<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/bt/13apr99APIC-CDCBioterrorism.PDF>

Schéma d'implantation d'une chaîne de prise en charge des personnes exposées



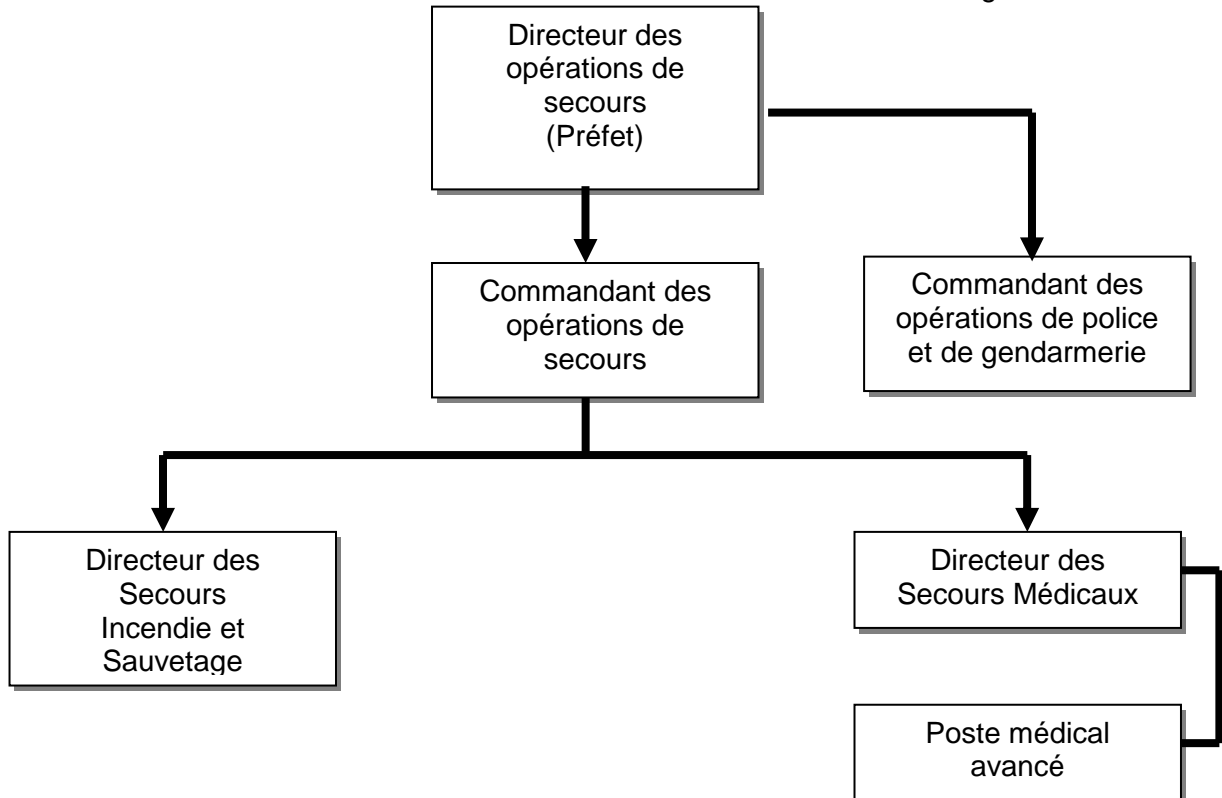
GUIDE TOXINES Ricine Fiche n°3.5	PRISE EN CHARGE DES PERSONNES EXPOSEES APRES UNE CONTAMINATION MALVEILLANTE ALIMENTAIRE OU HYDRIQUE EN MILIEU COLLECTIF	Septembre 2010
--	--	-----------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE LES PERSONNES EXPOSEES A UN AGENT BIOTERRORISTE DE FAÇON PRECOCE APRES REVENDICATION DE LA CONTAMINATION D'UN ALIMENT OU D'UNE BOISSON LORS D'UN REPAS COLLECTIF.

1. Fondamentaux

- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 4 à 24 heures
- Pas de mesure de décontamination des personnes exposées ni de mesures de protection particulières pour les intervenants
- La toxicité de la ricine est stable pendant plusieurs semaines à température ambiante
- Inactivation de la ricine au cours de la cuisson à une température de 100°C pendant 10 minutes et ceci quelle que soit la matrice
- Dégradation de la ricine par le chlore : en 20 minutes à une concentration en chlore libre de 100 mg/ml
- La direction des opérations de secours relève du préfet représentant de l'Etat dans le département.
- Le commandement des opérations de secours relève du directeur départemental des services d'incendie et de secours sous l'autorité du préfet avec l'appui d'un directeur de secours médicaux et d'un directeur des secours incendie et sauvetage.



2. Circonstances

- L'attentat est d'emblée revendiqué,
- Le lieu de l'attentat est connu,
- Le délai d'intervention des autorités sur le lieu de l'attentat est compatible avec la prise en charge des personnes exposées avant leur dispersion.

3. Préalable pour les actes malveillants

- Interdire l'accès au public du lieu du rassemblement collectif,
- Empêcher toute consommation des aliments et boissons,
- Consigner l'ensemble des aliments et des eaux de boisson aux fins d'analyse (voir fiche de détection),
- Identifier un point de regroupement des victimes.

4. Protocole de prise en charge des personnes exposées

➤ Au point de regroupement des victimes

- Le directeur des secours médicaux, sous l'autorité du COS, met en œuvre, l'installation du poste médical avancé (PMA) permettant :
 - a. la prise en charge clinique des personnes exposées dont l'état de santé le nécessite (essentiellement en raison de la décompensation de pathologies pré-existantes liée au stress de l'attentat).
 - b. l'identification et la traçabilité des personnes (renseignement de la fiche de suivi élaborée par l'InVS).
 - c. l'information des personnes exposées sur la conduite à tenir lors du retour au domicile :
 - Remise d'une fiche présentant les signes d'appel de l'intoxication, la nécessité d'une surveillance pendant 10 jours et la conduite à tenir en cas d'apparition de ces premiers signes pour une prise en charge adaptée.
 - Recours au centre 15 pour la régulation en cas d'apparition de signes cliniques.
 - Recours au numéro vert (au niveau du département ou au niveau national quand plusieurs départements sont impliqués ou quand les capacités de réponse locales sont dépassées) pour répondre aux autres questions (voir fiche communication).
- Mise en place d'une cellule d'urgence médico-psychologique (CUMP) permettant de proposer immédiatement aux personnes exposées une prise en charge adaptée, en cas de besoin.
- Information de l'ARS qui la relaie :
 1. sans délai, en appelant, les autorités sanitaires (Préfet, Direction départementale des services vétérinaires, CORUSS pour le département des urgences sanitaires/DGS, Institut de veille sanitaire)
 2. par tout moyen approprié, auprès des directeurs d'établissement de santé à l'attention des services d'urgences, de réanimation, des laboratoires de microbiologie et des pharmacies.

➤ Retour des personnes exposées à domicile en l'absence de symptômes.

- **Recommandation d'une consultation systématique** du médecin traitant à 48 heures de l'exposition
- **Orientation vers les établissements de santé** en cas d'apparition de symptômes nécessitant une prise en charge clinique après régulation par le centre 15
- **Suivi des personnes exposées** assuré par l'InVS à l'aide d'une fiche de suivi renseignée sur le lieu de l'exposition.

4. Références

Woods J, et al. (Ed) (2005) Ricin. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Casualties Handbook. USAMRIID, Fort Detrick, Maryland, USA, p. 93-6.

Audi J., Belson M., Patel M., Schier J. and Osterloh J. (2005) Ricin poisoning: a comprehensive review. JAMA 294, 2342-51.

Poli M., Roy C., Huebner K., Franz D. and Jaax N. (2007) Ricin. In: Medical Aspects of Biological Warfare, Textbooks of Military Medicine - Department of Defense, Office of The Surgeon General, US Army, Borden Institute., p. 323-35.

CDC and the Association for Practitioners in Infection Control and Epidemiology (APIC)"Bioterrorism Readiness Plan: A Template for Healthcare Facilities". Atlanta, Georgia and Washington.1999.

<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/bt/13apr99APIC-CDCBioterrorism.PDF>

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Ricine</p> <p>Fiche n°3.6</p>	<p>PRISE EN CHARGE A DOMICILE DES PERSONNES EXPOSEES APRES UN ACTE MALVEILLANT IMPLIQUANT LA RICINE</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	--	------------------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE A DOMICILE LES PERSONNES EXPOSEES DE FACON A DEPISTER PRECOCEMENT LES PREMIERS SIGNES DE L'INTOXICATION.

1. Fondamentaux

- Bien que l'absorption cutanée de la ricine soit nulle sur peau saine, et que le risque de ré-aérosolisation soit considéré comme très faible, il est recommandé d'effectuer une décontamination « douce » (déshabillage, lavage avec shampoing et savon) des patients exposés à un aérosol de ricine.
- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour.
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : 4 à 24 heures.
- La dose létale minimale chez l'homme est mal connue : elle est estimée à 1-20 mg/kg par voie orale et à 3-15 µg/kg par inhalation.
- Importance d'un diagnostic et d'une prise en charge précoces pour l'amélioration du pronostic.

2. Circonstances

- Le risque terroriste n'est pas connu immédiatement
- La population exposée s'est dispersée
- Revendication terroriste a posteriori ou survenue de cas d'intoxications liées à la ricine qui alertent les autorités sanitaires
- Les personnes exposées sont identifiées par une enquête épidémiologique

3. Premières mesures de communication/information

- a. Activation d'une **plate forme téléphonique** dédiée aux personnes exposées au niveau du département ou au niveau national (quand plusieurs départements sont impliqués ou quand les capacités de réponse locales sont dépassées).
Pour permettre le traitement des appels, les écoutants reçoivent :
 - la fiche de l'InVS qui précise les critères d'exposition,
 - la fiche de l'inVS qui va permettre d'assurer la traçabilité,
 - la fiche d'information sur l'intoxication à la ricine élaborée par la DGS
 - un document « questions/réponses » sur l'intoxication à la ricine adapté aux particularités de la situation présente.
- b. Information des centres 15 et des établissements de santé (services d'urgence, services de réanimation et CAP-TV) par MARS (message d'alerte sanitaire rapide émis par le ministère de la Santé). Le MARS précise que les appels des personnes exposées non symptomatiques, reçus au niveau du centre 15, doivent être basculés vers la plate forme téléphonique.
- c. Régulation par le centre 15 de la prise en charge des personnes exposées symptomatiques. Les médecins traitants assurent le suivi des personnes exposées et asymptomatiques, notamment en ce qui concerne le dépistage des signes précoces de la maladie.
- d. Information des médecins traitants par émission d'un message DGS-urgent et par la mise en ligne d'informations pratiques pour la prise en charge sur le site Internet du Ministère de la Santé. Un numéro d'appel dédié peut leur être réservé.

4. Protocole de prise en charge des personnes exposées

4.1 Information des personnes exposées

Les personnes exposées sont informées par les médias (réquisitionnés au besoin à cet effet) des circonstances de l'exposition et sont invitées à contacter la plate forme téléphonique mise en place.

Les écoutants de la plate forme téléphonique :

1. vérifient avec l'appelant la réalité de l'exposition grâce à une fiche élaborée par l'InVS (qui retrace les circonstances de l'exposition en termes de temps, de lieu et d'espace).
2. renseignent la fiche de suivi de l'InVS pour assurer l'identification et la traçabilité des personnes.
3. si la personne est symptomatique : recommandent l'appel immédiat au centre 15
4. Si la personne n'est pas symptomatique :
 - soit l'agent biologique en cause n'est pas encore identifié :

Informent sur la nécessité éventuelle d'une décontamination (voir paragraphe infra)

Informent sur la nécessité d'une surveillance clinique sur la base d'une fiche présentant les signes d'appel des principales pathologies pouvant être impliquées dans un attentat bioterroriste (peste, charbon, tularémie, variole, botulisme, ricine), la durée et les modalités de la surveillance
 - soit l'agent biologique en cause est identifié comme étant la ricine :

Informent sur l'absence de risque de contamination de l'entourage et l'absence de nécessité d'une décontamination tout en recommandant de placer les affaires portées dans un sac en plastique et de prendre une douche.

Renseignent sur les signes précoces sur la base d'une fiche d'information spécifique « intoxication liée à la ricine » et sur la nécessité d'une surveillance clinique **pendant 3 jours**
 - recommandent une consultation chez le médecin traitant à 48 heures de l'exposition
 - indiquent la nécessité du recours au centre 15 en cas d'apparition des signes précoces

Les fiches d'information sont téléchargeables sur Internet (www.sante.gouv.fr) et mises à disposition par les autorités sanitaires locales au niveau de lieux publics de proximité.

4.2. Décontamination

1. A mettre en œuvre uniquement dans les circonstances suivantes :

acte malveillant par aérosolisation

+

agent biologique non identifié ou lorsque les agents PCT ne peuvent être écartés.

Par ailleurs, si la ricine est identifiée, par mesure de précaution, et même si le risque de transfert de contamination est jugé faible, il reste conseillé de mettre en place des procédures « douces » de décontamination

+

délai compatible avec la nécessité d'une décontamination (la personne exposée n'a pas changé de vêtement depuis l'exposition).
2. Donner comme consigne de se déshabiller sans secouer les vêtements en évitant de mettre l'extérieur des vêtements en contact avec la peau nue
4. Placer immédiatement les vêtements dans le lave-linge (en faisant tourner à la température maximale à adapter en fonction de la nature des vêtements) ou à défaut dans un sac poubelle à fermer par un lien
5. Faire un shampoing puis prendre une douche savonneuse

4.3. Suivi médical.

1. En l'absence de symptomatologie : par le médecin traitant avec une consultation systématique 48 - 72 heures après l'exposition qui permet de s'assurer que toutes les consignes de surveillance ont bien été intégrées par la personne exposée et qui permet d'évaluer le stress post traumatique.
2. En présence de signes précoces : par le centre 15 pour la régulation en vue d'une prise en charge adaptée.

Le centre 15 évalue le classement de la personne exposée en cas possible (en cas de doute, le médecin régulateur du centre 15 contacte l'InVS qui peut mettre en place une cellule d'aide à l'évaluation clinico-épidémiologique ou par défaut au réanimateur de l'établissement de santé référent), la nécessité de l'hospitalisation du patient.

5. Protection des médecins intervenant auprès des patients

- Application des précautions standards d'hygiène
- Elimination des matériels de prélèvement ou de soins usagés par la filière DASRI
- Décontamination du matériel réutilisable selon les modalités habituelles

6. Alerte des autorités sanitaires

Une intoxication liée à la ricine ne fait pas partie des maladies faisant l'objet d'une déclaration obligatoire. Cependant, et compte tenu du caractère extrêmement rare et atypique de ce type d'intoxication, la survenue d'un cas avéré ou suspecté d'intoxication à la ricine doit donner lieu à un signalement immédiat par téléphone ou télécopie à l'Agence Régionale de Santé (ARS).

D'une manière plus générale, les toxi-infections alimentaires font l'objet d'une déclaration obligatoire.

- Procédure :

Le signalement des maladies à déclaration obligatoire par les médecins et les biologistes qui les suspectent ou les diagnostiquent à l'ARS de leur lieu d'exercice, est une procédure d'urgence et d'alerte qui s'effectue sans délai, sans support dédié et par tout moyen approprié (téléphone, télécopie). La même procédure doit être appliquée si une intoxication à la ricine est suspectée.

La procédure de signalement permet à l'ARS de réagir rapidement, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et de prendre les mesures de gestion nécessaires. Ces investigations peuvent impliquer, en tant que de besoin, les Cellules interrégionales d'épidémiologie (Cire), l'Institut de veille sanitaire, les Centres nationaux de référence (CNR) et les autres services déconcentrés de l'Etat (Direction en charge des services vétérinaires, Direction en charge de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes...).

Dans le cadre de la procédure de signalement, les données transmises par les déclarants peuvent être nominatives. Ces données nominatives ne sont pas conservées au-delà du temps nécessaire à l'investigation et à l'intervention.

- Critères de signalement :

Diagnostic clinique d'une intoxication liée à la ricine sans attendre la confirmation biologique. Devant une simple suspicion, en cas de doute, le médecin ou le biologiste doivent signaler le cas à l'ARS qui se chargera de le confirmer, si nécessaire avec l'aide de l'InVS.

- Remontée de l'alerte :

Après avoir validé les informations du déclarant, le médecin inspecteur de santé publique doit faire remonter ce signalement sans délai à l'InVS et au CORRUSS du département des urgences sanitaires / DGS. Après avis de l'InVS, le DUS confirme ou infirme la possible origine malveillante. Si une possible origine malveillante est retenue, l'ARS informe alors le procureur de la République.

7. Références

Woods J, et al. (Ed) (2005) Ricin. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Casualties Handbook. USAMRIID, Fort Detrick, Maryland, USA, p. 93-6.

Audi J., Belson M., Patel M., Schier J. and Osterloh J. (2005) Ricin poisoning: a comprehensive review. JAMA 294, 2342-51.

Poli M., Roy C., Huebner K., Franz D. and Jaax N. (2007) Ricin. In: Medical Aspects of Biological Warfare, Textbooks of Military Medicine - Department of Defense, Office of The Surgeon General, US Army, Borden Institute., p. 323-35.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Ricine</p> <p>Fiche n°3.7</p>	<p>PRISE EN CHARGE EN ETABLISSEMENT DE SANTE DES PERSONNES EXPOSEES A LA RICINE</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	--	------------------------------

OBJECTIF

PRENDRE EN CHARGE EN ETABLISSEMENT DE SANTE LES PERSONNES EXPOSEES, DANS DES CONDITIONS PERMETTANT UNE QUALITE DES SOINS OPTIMALE.

1. Fondamentaux

- Pas de risque cutané sur peau saine. Le risque associé avec une ré-aérosolisation pour les personnes exposées à la ricine est considéré comme faible mais non nul. De ce fait une décontamination des patients à l'extérieur de la zone contaminée est restée conseillée.
- Pas de transmission inter-humaine
- Période d'incubation courte et dépendante de la dose de toxine : minimum : 4 heures / maximum : 24 heures.
- La ricine possède une activité enzymatique inactivant les ribosomes, aboutissant à une inhibition des synthèses protéiques et à la mort cellulaire. La toxicité serait également liée à une altération directe des membranes cellulaires et à la production de cytokines inflammatoires.
- Les symptômes et les lésions dépendent largement de la voie de contamination. Cette dépendance résulterait d'une fixation rapide de la ricine aux cellules rencontrées, sans sélectivité pour des cellules spécifiques.
- Dose létale minimale chez l'homme : 3 à 15 µg/kg par inhalation (données extrapolées à partir d'études chez le primate), 1 à 20 mg/kg par ingestion.
- Importance d'un diagnostic et d'une prise en charge précoces pour l'amélioration du pronostic

2. Circonstances

Si l'attentat terroriste a mis en jeu un aérosol, que les risques radiologique et chimique ont été levés et que les autorités policières craignent un attentat biologique, les victimes sont orientées, tant que l'agent causal n'a pas été identifié, vers les établissements ciblés pour le risque biologique dans le cadre du plan blanc élargi. Dans ce cas de figure, le guide peste-charbon-tularémie sert alors de référence pour la gestion de l'évènement. In fine, si le botulisme est identifié (mise en évidence de la toxine lors d'un test de détection, symptômes cliniques, etc.), les recommandations ci-dessous doivent alors être mises en œuvre.

Plusieurs types de patients peuvent se présenter en établissement de santé :

- Des patients symptomatiques le plus souvent régulés par le centre 15 et dont la prise en charge est assurée par les services de soins dédiés des établissements de santé désignés dans le cadre du plan blanc élargi ;
- Des personnes exposées se présentant directement aux urgences.
- Les personnes exposées asymptomatiques sont orientées vers leur domicile et font l'objet de la même information et du même suivi que les personnes exposées prises en charge sur le lieu de l'attentat (information sur la nécessité d'une surveillance **pendant 03 jours** à compter de la date d'exposition, les premiers signes d'intoxication par la ricine et l'utilité de recourir au centre 15 pour la régulation en cas d'apparition de ces premiers signes pour une prise en charge adaptée ; renseignement de la fiche de suivi élaborée par l'InVS).

- Les personnes exposées symptomatiques sont prises en charge et orientées vers les services de soins adaptés via la régulation par le centre 15.
- Des personnes non exposées au risque bio-terroriste qui se présentent spontanément et pour lesquelles le retour à domicile est recommandé.

3. Préalable

La prise en charge médicale de l'intoxication par la ricine nécessite des conditions d'hospitalisation particulières basées sur une chaîne de prise en charge adaptée à la sévérité de la forme clinique : unités d'hospitalisation, unités de soins continus, unités de réanimation.

Il est nécessaire d'établir au préalable :

- un état des lieux régional, zonal et national des capacités d'hospitalisation, en soins continus et en réanimation pour les secteurs adultes et enfants et un état des lieux du parc de respirateurs.
- Un état des lieux au niveau de chaque zone de défense, qui est en charge de définir sa propre organisation mais doit au minimum disposer de :
 1. Liste des établissements de santé dans lesquels les patients doivent être orientés de façon prioritaire dans le cadre du plan blanc élargi
 2. Cartographie et capacité des services de réanimation (les données des schémas régionaux de l'organisation des soins de dernière génération pourront être utilement exploitées.
 3. Evaluation dans chaque établissement dédié des capacités des salles de réveil afin de pouvoir envisager par la déprogrammation des activités du bloc chirurgical, une mise à disposition de capacités supplémentaires de réanimation (lits, respirateurs, personnels formés). L'ensemble des procédures applicables au sein de ces établissements de santé a vocation à être défini dans l'annexe biologique spécifique des plans blancs de ces établissements.

4. Matériel nécessaire

- Places de réanimation, respirateurs
- Réserves d'oxygène

5. Protocole de prise en charge des patients

5.1 Régulation

- Lors de l'appel pour un malade présentant des signes d'atteinte par la ricine le médecin régulateur du centre 15 envoie le moyen sanitaire qu'il juge le plus adapté à la situation clinique du patient. En cas de doute, le médecin régulateur contacte l'InVS qui peut mettre en place une cellule d'aide à l'évaluation clinico-épidémiologique ou par défaut le réanimateur de l'établissement de santé référent.
- Le patient est orienté si nécessaire vers le service de réanimation le plus proche parmi ceux des établissements de santé identifiés dans le cadre du plan blanc élargi. Pour permettre une régulation efficace, le centre 15 recense au moins une fois par jour le nombre de places de réanimation disponibles dans les établissements de santé du département.
- Le SAMU départemental informe le SAMU de l'établissement de référence de la zone de défense du risque de contamination possible d'autres personnes. En cas de besoin, le médecin coordonnateur de la zone organise la mise à disposition de respirateurs complémentaires.
- L'absence de risque de transmission inter humaine n'implique pas de précaution particulière pour le transport sanitaire hors les capacités de ventilation assistée.

5.2 Recommandations en cas de dépassement des capacités habituelles de prise en charge hospitalière en réanimation du département

- Au sein des établissements de santé : déprogrammation et utilisation des salles de réveil
- Quand les capacités des établissements du département sont dépassées : régulation régionale, voire nationale, pour transférer les patients vers des services de réanimation disposant de lits disponibles.

5.3 Admission dans un établissement de santé

- Afin de permettre la prise en charge rapide de patients présentant une intoxication par la ricine et de ne pas perturber l'activité des urgences, il y a lieu d'identifier, en cas de suspicion d'acte malveillant, dans tout établissement de santé disposant d'un service d'urgence, une filière de prise en charge dédiée et identifiée.
- Orientation vers la structure adaptée à la sévérité de la forme clinique : unités d'hospitalisation, unités de soins continus, unités de réanimation.
- Les prélèvements biologiques visant à mettre en évidence l'existence de la ricine sont à mettre en œuvre dès l'admission du patient et avant toute administration de médicaments (cf fiche sur les prélèvements biologiques).

5.4 Isolement

Pas de mesure d'isolement en l'absence de risque de transmission inter humaine.

5.5 Protection du personnel et de l'environnement

Seules les mesures standard sont à mettre en œuvre.

Mesures environnementales :

- Décontamination des surfaces avec une solution de 0,5% d'hypochlorite de sodium (voir en annexe la fiche pratique relative à l'utilisation de l'eau de javel en milieu de soins)
- Elimination des matériels de prélèvement ou de soins usagés par la filière DASRI
- Décontamination du matériel réutilisable selon les modalités habituelles

5.6 Opérations funéraires

Pas de mesures spécifiques.

6. Alerte des autorités sanitaires

Une intoxication liée à la ricine ne fait pas partie des maladies faisant l'objet d'une déclaration obligatoire. Cependant, et compte tenu du caractère extrêmement rare et atypique de ce type d'intoxication, la survenue d'un cas avéré ou suspecté d'intoxication à la ricine doit donner lieu à un signalement immédiat par téléphone ou télécopie à l'Agence Régionale de Santé (ARS).

D'une manière plus générale, les toxi-infections alimentaires font l'objet d'une déclaration obligatoire

- Procédure :

Le signalement des maladies à déclaration obligatoire par les médecins et les biologistes qui les suspectent ou les diagnostiquent à l'ARS de leur lieu d'exercice, est une procédure d'urgence et d'alerte qui s'effectue sans délai, sans support dédié et par tout moyen approprié (téléphone, télécopie). La même procédure doit être appliquée si une intoxication à la ricine est suspectée.

La procédure de signalement permet à l'ARS de réagir rapidement, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et de prendre les mesures de gestion nécessaires. Ces investigations peuvent impliquer, en tant que de besoin, les Cellules interrégionales d'épidémiologie (Cire), l'Institut de veille sanitaire, les Centres nationaux de référence (CNR) et les autres services déconcentrés de l'Etat (Direction en charge des services vétérinaires, Direction en charge de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes...).

Dans le cadre de la procédure de signalement, les données transmises par les déclarants peuvent être nominatives. Ces données nominatives ne sont pas conservées au-delà du temps nécessaire à l'investigation et à l'intervention.

- Critères de signalement :

Diagnostic clinique d'une intoxication liée à la ricine sans attendre la confirmation biologique. Devant une simple suspicion, en cas de doute, le médecin ou le biologiste doivent signaler le cas à l'ARS qui se chargera de le confirmer, si nécessaire avec l'aide de l'InVS.

- Remontée de l'alerte :

Après avoir validé les informations du déclarant, l'ARS doit faire remonter ce signalement sans délai à l'InVS et au CORRUSS du département des urgences sanitaires / DGS. Après avis de l'InVS, le DUS confirme ou infirme la possible origine malveillante. Si une possible origine malveillante est retenue, l'ARS informe alors le procureur de la République.

7. Références

Woods J, et al. (Ed) (2005) Ricin. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Casualties Handbook. USAMRIID, Fort Detrick, Maryland, USA, p. 93-6.

Audi J., Belson M., Patel M., Schier J. and Osterloh J. (2005) Ricin poisoning: a comprehensive review. JAMA 294, 2342-51.

Poli M., Roy C., Huebner K., Franz D. and Jaax N. (2007) Ricin. In: Medical Aspects of Biological Warfare, Textbooks of Military Medicine - Department of Defense, Office of The Surgeon General, US Army, Borden Institute., p. 323-35.

GUIDE TOXINES	DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE ET DETECTION	Septembre 2010
Ricine		
Fiche n°3.8		

OBJECTIF

PRECISER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DE LA RICINE ET LE TYPE D'ANALYSE PERMETTANT SON IDENTIFICATION.

1. Fondamentaux

- La ricine est une toxine protéique, de la famille des lectines, présente dans la graine de ricin (*Ricinus communis*). Elle est facilement extraite de la graine par une extraction liquide liquide ;
- Par ailleurs la graine de ricin contient 3 autres molécules d'intérêt :
 - i. L'hémagglutinine RCA 120, protéine tétramérique qui agglutine naturellement les hématies humaines ;
 - ii. La ricinine, alcaloïde qui peut être recherché dans l'urine lorsqu'une intoxication à la ricine est suspectée ;
 - iii. La 2 S albumine, une protéine responsable d'allergies chez les personnes travaillant à la production d'huile de ricin.
- La ricine (CAS 9009-86-3) est une toxine glycoprotéique d'un poids moléculaire de l'ordre de 65 kDa. Elle est constituée de 2 sous unités appelées chaîne A et chaîne B, reliées entre elles par un pont disulfure, leur poids moléculaire est de l'ordre de 30 kDa.
- La chaîne A est une protéine de type N-glycosidase, qui porte la toxicité de la ricine, elle agit comme inhibiteur de la synthèse protéique. La chaîne B est une lectine qui permet la fixation de la ricine sur les membranes cellulaires.
- Différentes formes de ricine ont été décrites dues aux variabilités des chaînes A et B. Cette variabilité est due à la fois à des degrés de glycosylation différents mais aussi à des variations génétiques qui entraîneraient des modifications du nombre d'acides aminés (jusqu'à 5) et des substitutions en certaines positions.
- Les propriétés physico-chimiques de la ricine sont en général similaires aux propriétés des protéines. La stabilité dépend de la température, de l'hydratation, du pH. La ricine est difficilement hydrolysable par les endopeptidases classiques (chymotrypsine, trypsine) ce qui explique sa non dégradation lors de son passage dans le tractus digestif.
- A l'heure actuelle il n'y a pas de méthodes normalisées pour la détection et l'identification de la ricine, chaque laboratoire utilisant des techniques qui lui sont propres. En règle générale, les méthodes de détection et d'identification de la ricine vont être des méthodes liées à ses propriétés immunologiques, fonctionnelles, structurales et physico-chimiques.
- Une méthode alternative peut aussi consister à la mise en évidence par biologie moléculaire du gène codant pour la ricine.

2. Circonstances

Clinique : voir fiche 3.3 et toujours accompagner la demande d'analyse de la description des signes cliniques

Le diagnostic biologique, utile pour confirmer le diagnostic clinique, est indispensable car la symptomatologie clinique de l'intoxication est non spécifique.

Le diagnostic est indispensable, en cas d'acte malveillant ou d'intoxication naturelle, lors de l'hospitalisation des premiers cas. En revanche, quand le diagnostic est posé avec certitude, il n'est pas utile, pour la prise en charge des patients, de répéter le diagnostic biologique pour chaque nouveau patient, la clinique suffit.

Toutefois, le diagnostic biologique conserve un intérêt médico-légal ou scientifique (les prélèvements peuvent alors être conservés et analysés ultérieurement). Cela évite la saturation du réseau de laboratoires et sécurise les personnels manipulant les prélèvements.

3. Matériel nécessaire :

Tubes secs (sans anticoagulant)

Sacs réfrigérants pour transport des tubes de prélèvements

Pots à coproculture (utilisables également pour les prélèvements de liquide gastrique...)

5. Protocole de mise en évidence

Protocole de mise en évidence de la toxine

Prélèvements :

Sérum : utiliser un tube sec (sans anticoagulant). Faire le prélèvement dès l'apparition des premiers symptômes (voir fiche diagnostic clinique). Prélever au moins 20 ml de sang total, quantité nécessaire de sang afin de pouvoir récupérer 10ml de sérum. Fèces : placer l'échantillon –entre 10 et 50g- dans un pot à coproculture. Etiqueter le contenant.

Liquide gastrique ou vomissures : placer 20 ml dans un pot à coproculture.

Toujours accompagner la demande d'analyse d'une description des signes cliniques que présente le patient.

A l'heure actuelle la détection et l'identification de ricine dans un échantillon ne repose pas sur des méthodes normalisées. Les techniques les mieux adaptées apparaissent les méthodes immunologiques et la spectrométrie de masse. Il conviendra néanmoins lors de la recherche de la ricine de bien distinguer la ricine et l'hémagglutinine RCA 120.

5.1. Méthodes immunologiques

La ricine peut être détectée par méthode ELISA en utilisant des anticorps anti chaîne A et/ou anti-chaîne B. Les seuils de détection sont de l'ordre du ng/ml. L'utilisation uniquement d'anticorps anti chaîne B peut entraîner de réaction faussement positive avec d'autres lectines

Des outils de détection rapide de type tickets détecteurs existent, ils permettent de détecter en une dizaine de minutes en milieu liquide la ricine à partir d'une concentration de quelques ng/ml.

Il faut noter cependant que les méthodes immunologiques ne permettent pas de distinguer la ricine de l'hémagglutinine RCA 120 présente aussi dans la graine de ricin.

En cas de réaction positive après un test immunologiques, la ricine et l'hémagglutinine peuvent être distinguées soit par une électrophorèse native en gel SDS-PAGE et/ou par un test d'agglutination avec hématies humaines.

5.2. Méthodes enzymatiques

La détection de la ricine par méthode enzymatique consiste à mesurer son activité inhibitrice de la synthèse protéique.

5.3. Méthodes physico-chimiques

La ricine peut être détectée et identifiée par spectrométrie de masse soit par LC/MS, soit par MALDI-TOF MS. Ces techniques demandent au préalable une hydrolyse plus ou moins ménagée de la ricine d'où des préparations d'échantillons qui peuvent être longues. L'analyse par spectrométrie de masse peut être précédée lors de la préparation de l'échantillon par une étape de purification de la ricine sur colonne d'affinité ou par immuno capture.

5.4 Autres méthodes

La toxicité d'un échantillon contenant de la ricine peut être mesurée par voie I.P chez la souris. La ricine peut aussi être quantifiée par dosage protéique de type Lowry et Folin

Laboratoire de référence

Il n'existe pas comme pour les agents bactériens de la menace terroriste ou la toxine botulique de laboratoire référent de type CNR. En cas de suspicion d'événement biologique provoqué avec la ricine, les établissements pouvant être sollicités pour effectuer les analyses seraient les laboratoires des établissements de santé référents en première intention, puis si besoin, des laboratoires spécialisés du réseau national des laboratoires Biotox – Piratox (DGA Maîtrise NRBC (MinDef/DGA) et/ou l'Institut de Recherche de Biologie Médicale du Service de Santé des Armées (MinDef/SSA). L'orientation des prélèvements se fera en liaison avec l'InVS, le département des urgences sanitaires de la DGS et la cellule nationale de conseil (CNC) du COGIC.

GUIDE TOXINES Ricine Fiche n°3.9	EMBALLAGE DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES POUVANT CONTENIR DES MATIERES POTENTIELLEMENT DANGEREUSES	Septembre 2010
--	---	-----------------------

OBJECTIF

EMBALLER LES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES POUR ASSURER LA SECURITE DU TRANSPORT DE MATIERES POTENTIELLEMENT DANGEREUSES VERS UN LABORATOIRE SPECIALISE.

1. Fondamentaux :

- Importance du signalement précoce aux autorités sanitaires pour la conduite de l'enquête épidémiologique et la prise de mesures de gestion adaptées que l'intoxication liée à la ricine soit d'origine naturelle (recherche de la source de contamination) ou d'origine malveillante ;
- Pour les premiers cas, la confirmation du diagnostic d'intoxication à la ricine par un laboratoire est nécessaire ;
- Les prélèvements biologiques suspectés de contenir des matières potentiellement infectieuses/dangereuses doivent être transportés avec le système de base du triple emballage de sécurité (l'agrément ONU de ces emballage n'est cependant pas requis).
- Les prescriptions pour l'emballage sont fixées par l'ONU et figurent dans les réglementations de l'OACI et de l'IATA au titre des Instructions d'emballage 602 et 650. En pratique, les échantillons biologiques suspects de contenir de la ricine doivent être transportés en triple emballage conforme à l'instruction P 650 (matières de catégorie B). L'emballage extérieur doit porter le numéro UN 3373 ;
- Les échantillons doivent être envoyés le plus rapidement possibles mais, à défaut, doivent être conservés à +4°C avant l'envoi, au maximum 3 à 4 jours.

2. Circonstances :

Dans le cas d'une suspicion d'intoxication liée à la ricine, la confirmation biologique du diagnostic clinique par un laboratoire spécialisé est nécessaire : laboratoires des établissements de santé référents en première intention, puis si besoin, le Centre d'Etude du Bouchet (MinDef/DGA) et/ou le Centre de Recherche du Service de Santé des Armées (MinDef/SSA).

Tous les prélèvements doivent être envoyés dans des emballages sécurisés réglementaires et doivent être accompagnés d'une fiche descriptive désignée sous le nom de « Fiche d'accompagnement de prélèvement pour le diagnostic d'une intoxication à la ricine ».

3. Précautions préalables :

Il est recommandé au personnel emballant les échantillons d'appliquer les précautions d'usage pour se prémunir d'un accident d'exposition au sang.

4. Matériel nécessaire :

Un triple emballage répondant aux instructions d'emballage 650 est constitué :

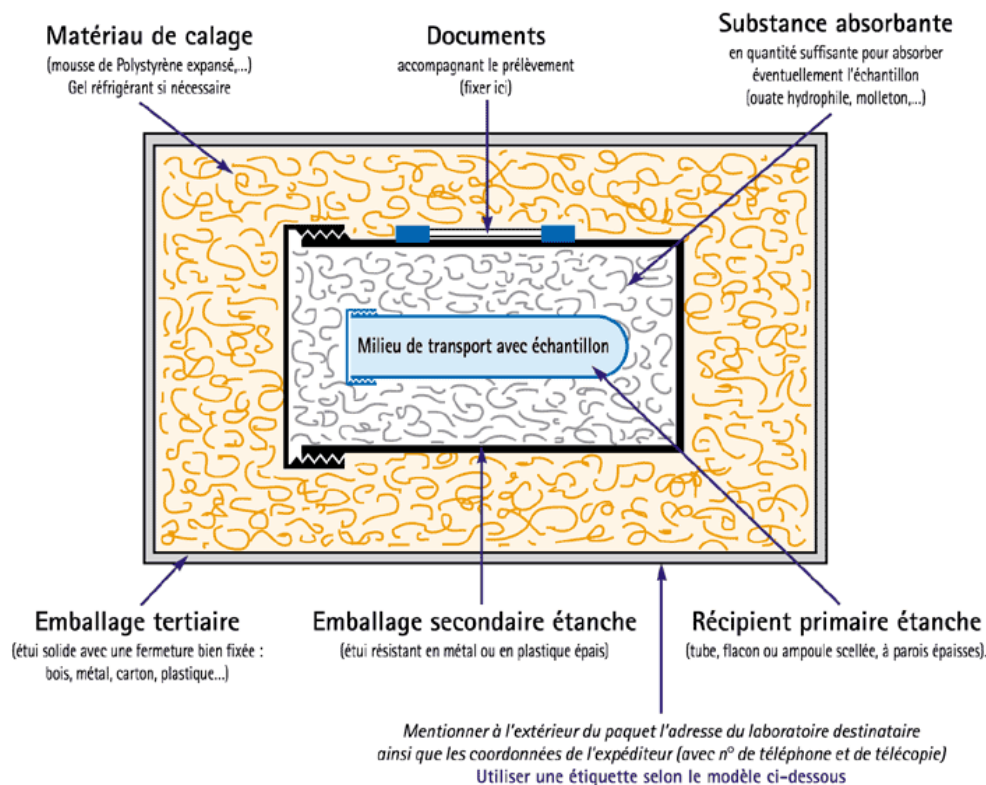
- d'un récipient primaire étanche contenant l'échantillon prélevé ;
- d'un emballage secondaire étanche contenant une mousse absorbante ;
- d'un emballage extérieur suffisamment résistant dont la plus petite dimension extérieure ne doit pas être inférieure à 10 cm.

5. Protocole :

Réalisation du triple emballage :

- Identifier le récipient primaire avec un feutre à encre indélébile ;
- l'essuyer avec une compresse imprégnée de liquide de Dakin ;
- le placer tête en haut dans la mousse absorbante protectrice du récipient secondaire. Si plusieurs récipients primaires sont placés dans un emballage secondaire unique, ils doivent être enveloppés individuellement pour éviter tout contact entre eux ;
- la mousse doit être en quantité suffisante pour absorber la totalité du contenu des récipients primaires en cas de rupture ;
- fermer hermétiquement l'emballage secondaire (bouchon correctement vissé) ;
- placer l'emballage secondaire dans l'emballage extérieur cartonné ;
- glisser l'enveloppe de renseignement dans la poche interne.

Schéma simplifié d'un triple emballage (selon normes de la classe 6.2. de l'O.N.U.)



6. Références :

Guide sur la sécurité du transport des matières infectieuses et des échantillons de diagnostic. OMS, division des maladies émergentes et autres maladies transmissibles, 1997.

Buisson Y, Cavallo J.D, Kowalski J.J, Renaudeau C, Tréguier J.Y. Les risques NRBC, savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004, page 83-86

CDC. Response to a Ricin incident: guidelines for Federal, State and Local Public Health and Medical Officials. Office of Public Health Emergency Preparedness, US Department of Health and Human Services, 2006. Disponible sur <http://emergency.cdc.gov/agent/ricin/hp.asp>

GUIDE TOXINES Ricine Fiche n°3.10	PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE	Septembre 2010
---	--------------------------------------	-----------------------

OBJECTIF

PRECISER LE TRAITEMENT SYMPTOMATIQUE D'UNE INTOXICATION PAR LA RICINE.

4. Fondamentaux

- Il n'existe pas de traitement spécifique efficace et recommandé pour le traitement des intoxications à la ricine ; le traitement est surtout symptomatique.

5. Protocole

2.1. La prévention de l'absorption systémique

- **En cas d'exposition par voie orale** elle repose sur une dose de charbon activé⁴ (1 g/kg de poids corporel (pc) max 50 g) chez les patients ne vomissant pas ; en cas de vomissements, l'épuration digestive est probablement inutile. Le lavage gastrique réalisé dans la première heure est une alternative à envisager.
- **En cas d'exposition par voie cutanée**, protéger les voies respiratoires (masque type FFP2), déshabiller la victime, ôter les bijoux. Laver largement la peau, les cheveux et les phanères avec de l'eau et du savon ; penser à bien rincer les yeux. La pénétration à travers la peau saine est considérée comme inexistante.
- **En cas d'exposition par inhalation**, placer la victime en zone saine ; une épuration digestive est inutile. Il peut être utile de décontaminer la peau (déshabiller, douche, savon, shampooing) et de rincer les yeux.

2.2. Le traitement symptomatique

- Les patients symptomatiques seront surveillés en unité de soins continus.
- Les troubles liés à l'exposition par voie orale sont traités par une correction attentive des pertes aqueuses et électrolytiques, les diarrhées devant être respectées car elles éliminent de la ricine. Surveillance clinique et biologique des fonctions rénales, hépatiques et maintien de l'hémodynamique cardiaque si besoin à l'aide d'amines.
- Pour l'inhalation, le traitement vise à maintenir une hémotose suffisante par l'oxygénothérapie, la ventilation assistée, la mise en place d'une pression terminale expiratoire positive ; les corticoïdes et autres anti-inflammatoires restent controversés.
- Pour l'injection, c'est le maintien des fonctions vitales en utilisant les techniques habituelles de réanimation.

6. Thérapeutiques – Etat des recherches en cours

De nombreux travaux de recherche sont actuellement menés dans les domaines de l'immunisation passive et des inhibiteurs dans le but de développer des contre-mesures médicales dirigées contre la ricine.

Une étude bibliographique exhaustive de ces travaux est présentée en annexe 8.

⁴ La capacité d'adsorption de la ricine sur le charbon n'a pas été quantifiée.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Autres toxines</p> <p>Fiche n°4.1</p>	<p>GENERALITES</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	---------------------------	------------------------------

Parmi les autres toxines souvent citées comme pouvant être utilisées dans des actes de malveillance figurent : l'entérotoxine B, la saxitoxine et la toxine epsilon.

Ce recensement, sans prétendre à exhaustivité, permet de pointer, compte tenu de leur toxicité et de leurs caractéristiques intrinsèques, des toxines susceptibles de générer des problèmes de santé publiques en cas d'utilisation malveillante.

Compte tenu du déficit de données sur la toxicité de ces toxines par voie aérienne, cette voie de contamination n'a pu que sommairement être décrite.

L'**entérotoxine B** (*voir fiche spécifique*) est l'une des toxines les plus puissantes produites par *Staphylococcus aureus*, connue pour être responsable avec d'autres entérotoxines (A, C à H) d'intoxications alimentaires collectives pouvant être sévères (toxines dites « du banquet ») voire incapacitantes. Ces toxines sont introduites dans la chaîne alimentaire soit par le portage de staphylocoques par les animaux de rente (ex. cas des mammites à staphylocoques avec passage des toxines dans le lait) soit par les opérateurs porteurs sains (présence de staphylocoques dans les muqueuses nasales) ou porteurs d'abcès (panaris....) et/ou par un manquement aux règles d'hygiène instituées.

La **saxitoxine** (*voir fiche spécifique*) est le représentant majeur de la famille des phycotoxines neurotoxiques dites paralysantes produites par des micro-algues du phytoplancton marin (dinoflagellés) ou d'eau douce (cyanobactéries) qui s'accumulent dans les tissus des coquillages essentiellement bivalves filtreurs (moules). Egalement puissamment toxique, la saxitoxine a pu conduire à des décès par paralysie des muscles respiratoires (quelques cas répertoriés suite à des intoxications collectives).

D'une manière générale, les entérotoxines et les phycotoxines provoquent des intoxications aiguës en quelques heures après ingestion. Autre caractéristique commune est leur grande stabilité notamment à la température, ce qui fait qu'elles « survivent » dans les conditions qui détruisent habituellement les micro-organismes producteurs et qu'elles ne sont pas ou très peu inactivées par la chaleur. Ces deux types de toxines peuvent être véhiculées par l'eau mais un effet de dilution important peut en diminuer l'impact.

La **toxine epsilon** est produite par *Clostridium perfringens* (types B et D). Elle est responsable d'une maladie naturelle chez les ruminants, principalement les ovins. La dose létale pour l'homme n'est pas documentée compte tenu de l'absence de cas humain. La dose létale chez la souris est de 70 ng/Kg par voie intraveineuse en moins d'une heure. Les propriétés de cette toxine et sa relative stabilité en font un agent potentiel de la menace.

A noter que toutes ces toxines sont dégradables par l'action du chlore.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Entérotoxine staphylococcique de type B (SEB)</p> <p>Fiche n°4.2</p>	<p>GENERALITES</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	---------------------------	------------------------------

OBJECTIF

RAPPELER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA MENACE LIEE A L'ENTEROTOXINE STAPHYLOCOCCIQUE DE TYPE B (SEB).

1. Fondamentaux

➤ **Généralités sur l'intoxication staphylococcique**

- Symptomatologie de type gastro-intestinal (nausées, vomissements, crampes abdominales, diarrhées) avec incubation courte (de 30 minutes à 8 heures).
- D'origine le plus souvent alimentaire.
- Dû à la présence de toxines préformées dans les matrices alimentaires où les staphylocoques toxigènes (Staphylocoques à coagulase positive dont *S. aureus* majoritairement) ont pu se développer à des valeurs supérieures à 10^5 ufc/g.
- Pas de transmission inter-humaine décrite à ce jour.

➤ **Mode d'action de l'entérotoxine staphylococcique de type SEB**

- La toxine de type SEB est un superantigène à activité neurotoxique.
- Cette toxine stimulerait les récepteurs des leucotriènes présents sur les muqueuses de l'appareil digestif et induirait une activation des centres nerveux du vomissement par l'intermédiaire du nerf vague.
- L'activité superantigénique se caractérise par la capacité de la toxine SEB à fortement activer le système immunitaire (30% d'activation contre 1% pour un antigène classique). Cette activation induit la production de nombreuses lymphokines pro-inflammatoires.

➤ **Toxicité des entérotoxines staphylococciques**

- A ce jour une vingtaine d'entérotoxines staphylococciques ont été décrites dans la littérature (SEA à SEIV).
- Parmi celles-ci les toxines de type SEA, SEB, SED, SEE et SEH ont été impliquées dans des toxi infections alimentaires collectives. Parmi les autres types toxiques, les toxines SEG et SEI ont une activité émétique démontrée.
- La dose déclenchant les premiers symptômes chez les sujets les plus sensibles après ingestion a été estimée à 40 ng (SEA).
- Entérotoxine A (SEA) : forme la plus souvent rencontrée dans les toxi-infections alimentaires.
- Entérotoxine B (SEB) : agent potentiel du risque biologique intentionnel. Classe B (classification CDC).
- La toxine de type SEB n'est en général pas létale mais peut induire une morbidité aiguë passagère très intense et incapacitante.
- La dose incapacitante par inhalation pour 50% de la population exposée a été estimée à 0,4 µg /kg pc et la dose létale pour 50% de la population exposée à 0,02 mg /kg pc.

➤ Inactivation et Destruction

- Les entérotoxines staphylococciques sont résistantes aux barèmes thermiques utilisés classiquement lors des procédés agro-alimentaires.
- Dégradation de la toxine par les produits de désinfection de l'eau (en particulier, chlore)

2. Références

Anonyme (2003). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on staphylococcal enterotoxins in milk products, particularly cheeses. SCVPH plenary meeting, March 27-28.

Balaban, N., and Rasooly, A. (2000). Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol* 61, 1-10

Le Loir, Y., Baron, F., and Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* 2, 63-76.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Entérotoxine staphylococcique de type B (SEB)</p> <p>Fiches n°4.3</p>	<p>VOIES DE CONTAMINATION</p>	<p>Septembre 2010</p>
---	--------------------------------------	------------------------------

OBJECTIF

PRESENTER LES DIFFERENTES VOIES DE CONTAMINATION POSSIBLES QU'ELLES SOIENT D'ORIGINE NATURELLE OU MALVEILLANTE.

1. Fondamentaux

- *Staphylococcus aureus* est une bactérie coque à Gram positif, aéro-anaérobie facultative présente sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée des mammifères.
- Parmi les souches de *S. aureus*, certaines sont capables de synthétiser une ou plusieurs entérotoxines lorsque les conditions environnementales sont favorables.
- Les principales caractéristiques de *S. aureus* sont résumées ci-après :
 - *Staphylococcus aureus* est une bactérie thermosensible exigeante en vitamines et acides aminés qui requiert des températures de croissance comprises entre 6 et 46°C (avec optimum à 37°C).
 - C'est une bactérie neutrophile (croissance entre pH 4 et 9,8) qui survit dans les aliments déshydratés et/ou congelés et qui tolère une concentration en sels (NaCl) élevée (jusqu'à 20 %) et une activité de l'eau a_w réduite (0,83).
- Sa croissance est inhibée par la présence de flores de compétition.
- Son rôle pathogène en toxi infection alimentaire (TIA) est lié à la sécrétion d'entérotoxines dont 20 types ont été décrits (de A à V).

2. Voies de contamination

➤ Modes de transmission dans les formes naturelles

Par l'alimentation lors de l'ingestion de toxine préformée au niveau d'aliments contaminés par *Staphylococcus aureus* (aliment d'un pH proche de la neutralité, riche en protéine).

Les aliments les plus « à risque » sont les suivants :

- les aliments recontaminés après traitement thermique ou tout autre procédé éliminant la flore de compétition. Plus l'aliment est manipulé, plus le risque est élevé. Par exemple, viandes, volailles et jambon cuits et tranchés, salades composées y compris salades de riz ou de légumes, gâteaux à la crème, plats cuisinés manipulés après cuisson
- les aliments fermentés à acidification lente permettant la croissance de *S. aureus* durant la fermentation. Par exemple, le fromage ou le salami.
- les produits séchés ou à teneur en eau réduite, dans lesquels la croissance de *S. aureus* a pu être favorisée à une des étapes de fabrication ou de stockage par une teneur en eau (a_w) réduite et une température favorable. Par exemple, le lait en poudre, les pâtes, les poissons séchés.

Par inhalation d'aérosol : ce mode d'exposition a été décrit lors d'accidents de laboratoires ou d'expérimentations sur volontaires humains.

Par voie cutanée et oculaire : ces voies de contamination ont été décrites.

➤ **Modes de transmission dans les formes d'origine malveillante (utilisation de l'entérotoxine staphylococcique de type SEB) :**

- Contamination de l'eau potable (réseau de distribution d'eau) ou action malveillante dans une usine de mise en bouteilles d'eau ou d'autres boissons.
- Contamination d'aliments dans une chaîne de préparation d'aliments ou de repas préparés (dans une usine du secteur agro-alimentaire ou une cuisine de restauration collective ou bien encore contamination de produits de base utilisés dans la fabrication de plats).
- Transmission par inhalation d'une forme aérosolisée.

3. Doses émétique et létale

- Cet indicateur n'est valable que pour un mode d'introduction précis dans l'organisme (ingestion, inhalation) et se base sur des données obtenues suite à des épisodes toxiques et/ou des expérimentations sur volontaires humains.
- Des études sur volontaires humains ayant ingérés des entérotoxines A, B ou C ont montré que la dose minimale provoquant une réponse émétique chez tous les volontaires était de 3,5 µg. Cependant lors d'un épisode toxique de grande ampleur la dose émétique 50 chez l'homme par voie orale a été estimée à 40 ng de SEA.
- Dose émétique 50 chez l'homme par inhalation : 0,4 ng SEB /kg pc.
- Dose létale 50 chez l'homme par inhalation : 0,02 µg SEB /kg pc

4. Impact de la voie de transmission sur la clinique de la maladie

Les symptômes de l'intoxication par SEB sont différents en fonction de la voie de contamination :

Lors d'une exposition par voie alimentaire, la clinique est dominée par les symptômes de type gastro-intestinaux : nausées, vomissements, crampes abdominales, diarrhées profuses généralement sans apparition de fièvre. La période d'incubation est d'apparition très rapide : de 30 minutes à 8 heures. Le rétablissement se fait généralement dans les 24 heures suivant l'exposition.

Lors d'une exposition par inhalation, en plus des symptômes de type nausées et vomissements, la clinique est dominée par un syndrome pseudo-grippal (fièvre, frisson, céphalées, myalgie, toux sèche) 3 à 12 heures après exposition. Dans les formes les plus sévères, une symptomatologie respiratoire (pouvant conduire dans de rares cas à un œdème aigu du poumon) a également été observée. La fièvre peut persister pendant 5 jours et la toux pendant 4 semaines.

5. Références

www.invs.sante.fr/publications/guides_biotox/guide_seb.html

Asao, T. *et al.* (2003). An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol Infect* 130, 33-40.

Rusnak, J.M. *et al.* (2004). Laboratory exposures to SEB. *Emerging infectious Diseases*.10, 9.

GUIDE TOXINES	GENERALITES	Septembre 2010
Saxitoxine		
Fiche n°4.4		

OBJECTIF

RAPPELER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA MENACE LIEE A LA SAXITOXINE.

1. Fondamentaux

➤ Généralités sur l'intoxication paralysante par la saxitoxine (STX) et ses dérivés

- Affection neurologique commune à l'homme et aux animaux
- Intoxication d'origine alimentaire généralement liée à la consommation de mollusques bivalves contaminés par la saxitoxine et ses dérivés, mais peut également impliquer d'autres animaux (crustacés)
- Toxines produites principalement par des micro-algues du milieu marin ou des cyanobactéries
- Famille constituée quasiment d'une trentaine de composés dont la saxitoxine est la tête de file et le composé le plus toxique

➤ Généralités sur les organismes producteurs

- Dinoflagellés toxigènes :
 - Classe des Dinophycées, micro-algues unicellulaires souvent autotrophes photosynthétiques et capables de se déplacer au moyen de deux flagelles
 - Habitat principal : milieu marin (influence des facteurs environnementaux : température, salinité, luminosité sur la régulation de la croissance et du métabolisme des micro-algues ; influence des facteurs nutritionnels sur la croissance de l'organisme, la biomasse cellulaire et la composition chimique de la biomasse)
 - Espèces toxigènes appartenant à trois genres : *Alexandrium*, *Gymnodinium* et *Pyrodinium*
- Cyanobactéries toxigènes :
 - Micro-organismes d'eau douce, procaryotes, à pigmentation de couleur bleu-vert (cyano), communément appelés cyanophycées ou cyanobactéries
 - Espèces toxigènes moins nombreuses que pour les dinoflagellés : *Lyngbia wollei*, *Aphanizomenon flos-aquae* et *Anabaena circinalis*
- Autres organismes producteurs :
 - Les toxines paralysantes pourraient être produites par certaines bactéries appartenant au groupe *Alteromonas/Pseudomonas* mais cette hypothèse est controversée
 - La macro-algue *Jania* sp a ponctuellement été rapportée dans la littérature comme productrice de toxines paralysantes

➤ Mode d'action de la STX

- Ingestion de la toxine accompagnée de troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées) et neurologiques plus ou moins graves
- Cible cellulaire : canal sodium
- Fixation réversible de la saxitoxine sur le bord extérieur du canal sodium voltage-dépendant des membranes plasmiques des cellules nerveuses (site 1)
- Paralysie du système neuromusculaire par inhibition sélective de l'augmentation de la perméabilité membranaire aux ions sodium

➤ **Toxicité de la STX et de ses dérivés**

- Les plus toxiques sont les toxines carbamates : STX, neosaxitoxine, gonyautoxines 1 à 4
- La STX est le composé le plus toxique de la famille des toxines paralysantes
- Les moins toxiques sont les dérivés N-sulfocarbamoyles : toxines B1, B2, C1 à C4
- Les dérivés décarbamoyles ont une toxicité intermédiaire
- Dose minimale pour un effet nocif observé : 2 µg équivalent STX/kg pc
- Dose de référence aiguë provisoire : 0,7 µg équivalent STX/kg pc

➤ **Inactivation et Destruction**

- Instables et facilement oxydables en milieu alcalin
- Stables en milieu légèrement acide
- Thermorésistance variable selon les toxines
- Réduction du niveau de contamination par cuisson mais n'élimine pas le risque d'intoxication
- Efficacité de destruction des toxines variable selon le procédé de cuisson (cuisson par friture plus efficace)
- Transfert de la toxine des coquillages vers le jus de cuisson

2. Références

Anonymous, 2004. Marine Biotoxins, FAO Food and Nutrition paper No. 80, 278 p.
<http://www.fao.org/docrep/007/y5486e/y5486e00.htm>

Anonymous, 2004. Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. Oslo, Norway, September 26-30, 31 p.

Biré R., 2004. Contribution à l'appréciation du risque pour l'homme lié à la présence de phycotoxines neurologiques dans les coquillages. Thèse université Paris 7 – Denis Diderot – UFR de Biologie et Sciences de la Nature ; 276 p.

Botana L., 2001. Seafood and freshwater toxins : pharmacology, physiology and detection. Marcel Dekker AG, Basel Switzerland. 798 p.

Botana L., 2007. Phycotoxins : chemistry and biochemistry. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom. 345 p.

Falconer I.A., 1993. Algal toxins in seafood and drinking water. Academic Press Ltd, London, United Kingdom. 224 p.

Frémy J.-M., Lassus P., 2001. Toxines d'algues dans l'alimentation. Editions Ifremer, Plouzané, France. 560 p.

GUIDE TOXINES Saxitoxine Fiche n°4.5	VOIES DE CONTAMINATION	Septembre 2010
--	-------------------------------	-----------------------

OBJECTIF

PRESENTER LES DIFFERENTES VOIES DE CONTAMINATION POSSIBLES QU'ELLES SOIENT D'ORIGINE NATURELLE OU MALVEILLANTE.

1. Fondamentaux

- Les organismes producteurs de STX et de ses dérivés sont naturellement présents dans l'environnement.
- Du fait de leur diversité (dinoflagellés, cyanobactéries) ils peuvent coloniser le milieu marin et peuvent également être retrouvés en eaux saumâtres ou douces.
- Certaines espèces de dinoflagellés sont capables de survivre dans des conditions environnementales défavorables en formant des kystes. Ces formes de résistance peuvent rester en dormance dans les sédiments et survivre pendant des mois, voire des années. Lorsque les conditions de croissance redeviennent favorables ces kystes peuvent germer.

2. Voies de contamination

L'intoxication paralysante résulte de l'exposition à la STX ou à l'un des ces dérivés.

Contrairement à certaines toxines marines et cyanotoxines pour lesquelles il peut y avoir une toxicité par ingestion, contact et/ou inhalation, dans le cas de la STX et de ses dérivés la voie de contamination est alimentaire.

Modes de transmission dans les formes naturelles

- Par l'alimentation lors de l'ingestion de toxines au niveau d'aliments contaminés tels que les coquillages et crustacés.

Modes de transmission dans les formes d'origine malveillante

- Contamination de l'eau potable (réseau de distribution d'eau) ou action malveillante dans une usine de mise en bouteilles d'eau ou d'autres boissons.
- Contamination d'aliments dans une chaîne de préparation d'aliments ou de repas préparés (dans une usine du secteur agroalimentaire ou une cuisine de restauration collective ou bien encore contamination de produits de base utilisés dans la fabrication de plats).
- Contamination de solutés injectables.

3. Relation dose – effet

Les premiers symptômes apparaissent après ingestion de 144 à 1660 µg équivalent-STX (µg éq. STX) et on estime que la dose létale *per os* chez l'homme est comprise entre 456 et 12400 µg éq. STX. Cependant il est à noter que ces valeurs sont très discutées en raison précisément de la grande variabilité individuelle. Ainsi, à titre d'exemple des doses de 320 µg éq. STX n'ont entraîné aucun symptôme alors que dans certains cas l'ingestion de 300 µg éq. STX a été fatale.

4. Impact de la voie de transmission sur la clinique de la maladie

Quel que soit le mode de contamination, la clinique est dominée par les symptômes neurologiques. On distingue 3 degrés d'intoxication :

- Bénin : paresthésie buccale pouvant s'étendre au visage et au cou, puis aux extrémités des doigts et des orteils ; céphalées, nausées et vomissements parfois observés ;
- Sévère : paresthésie s'étendant aux bras et aux jambes, incohérence de la parole, sensation d'engourdissement et ataxie accompagnée d'une impression de « flotter dans les airs » ; apparition de difficultés respiratoires et sensation d'étouffement ;
- Extrême : sensation de choc ; paralysie motrice et en particulier respiratoire pouvant conduire à la mort sans assistance respiratoire;

Les premiers symptômes apparaissent habituellement entre 5 et 30 minutes après ingestion des toxines et sont variables selon la sensibilité individuelle et la dose ingérée. Les difficultés respiratoires pouvant dans les cas « extrêmes » conduire à la mort surviennent 2 à 24 heures après ingestion.

5. Traitement

Il n'existe aucun antidote à une intoxication paralysante chez l'homme. Cependant, des essais chez l'animal ont montré que la 4-aminopyridine peut être utilisée comme antidote chez les rongeurs.

Chez l'homme diverses interventions peuvent être réalisées afin de réduire la sévérité de l'intoxication :

- Vidage du contenu gastrique pour limiter l'absorption de la toxine
- Administration de charbon actif ou de boissons alcalines au patient afin d'inactiver la toxine
- Mise sous assistance respiratoire pour pallier toute détresse respiratoire

Si le patient traité survit au delà de 18 heures le pronostique est bon avec une récupération complète.

6. Références

Anonymous, 2004. Marine Biotoxins, FAO Food and Nutrition paper No. 80, 278 p. <http://www.fao.org/docrep/007/y5486e/y5486e00.htm>

Anonymous, 2004. Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. Oslo, Norway, September 26-30, 31 p.

Biré R., 2004. Contribution à l'appréciation du risque pour l'homme lié à la présence de phycotoxines neurologiques dans les coquillages. Thèse université Paris 7 – Denis Diderot – UFR de Biologie et Sciences de la Nature ; 276 p.

Botana L., 2001. Seafood and freshwater toxins : pharmacology, physiology and detection. Marcel Dekker AG, Basel Switzerland. 798 p.

Botana L., 2007. Phycotoxins : chemistry and biochemistry. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom. 345 p.

Falconer I.A., 1993. Algal toxins in seafood and drinking water. Academic Press Ltd, London, United Kingdom. 224 p.

Frémy J.-M., Lassus P., 2001. Toxines d'algues dans l'alimentation. Editions Ifremer, Plouzané, France. 560 p.

GUIDE TOXINES Toxine Epsilon Fiche n°4.6	GENERALITES	Septembre 2010
--	--------------------	-----------------------

OBJECTIF

RAPPELER LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA MENACE LIEE A LA TOXINE EPSILON.

1. Fondamentaux

➤ Généralités sur l'intoxication par la toxine epsilon

- Maladie naturelle observée chez les ruminants, principalement les ovins.
- Toxine produit dans le contenu intestinal à la suite d'une prolifération de *Clostridium perfringens* due à un dérèglement de la microflore digestive (changement brusque d'alimentation, régime riche en glucides facilement fermentescibles, ...).
- Entérotoxémie sévère se traduisant souvent par une mort subite.
- Forme aigue :
 - signes nerveux d'hyperexcitation, avec incoordination motrice, convulsions, anxiété, mouvements de pédalage, convulsions
 - détresse respiratoire, cyanose
 - coma et mort

➤ Généralités sur le microorganisme producteur, *Clostridium perfringens*

- Bactéries anaérobies, sporulées, immobiles.
- Cultive rapidement en milieu riche à bases de peptones et à des températures de 15 à 50°C (température optimum de croissance 40- 45°C), très gazogène.
- Habitat principal: environnement (sol, boues, lisier, sédiments, poussières ...) y compris le tube digestif des animaux sains.
- *C. perfringens* est divisé en 5 types toxiques selon les toxines produites. La toxine epsilon est produite par les types B et D.

➤ Mode d'action de la toxine epsilon

- Protéine de 36 kDa activée par clivage protéolytique (trypsine, alpha-chymotrypsine) en N et C-terminal.
- Reconnaissance d'un récepteur spécifique à la surface cellulaire, encore non identifié, oligomérisation, formation de pore membranaire, mort cellulaire rapide.
- Augmentation de perméabilité des barrières endothéliales (œdème, pétéchies sur les séreuses).
- Passage de la barrière hémato-méningée, œdème périvasculaire dans le cerveau, stimulation de la libération de glutamate par les neurones glutamatergiques.
- Atteinte rénale, nécrose des cellules des tubes collecteurs et lyse de la corticale rénale.

➤ Toxicité de la toxine epsilon

- Dose létale chez la souris, 70 ng/kg par voie intraveineuse en moins de 60 min. Niveau de toxicité juste en dessous de celui des toxines botuliques et tétanique.
- Intoxication possible par administration d'un aérosol de la toxine epsilon

➤ Inactivation, destruction

- Stable à l'exposition aux protéases.
- Détruite par la chaleur, 5 min à 70°C

➤ Traitement, prévention

- Pas de traitement spécifique.
- Le riluzole, qui prévient le relargage de glutamate, préviendrait partiellement les effets de la toxine epsilon.
- Vaccin anti-toxine epsilon disponible pour les animaux

2. Références

- Chassin, C., M. Bens, J. de Barry, R. Courjaret, J. L. Bossu, F. Cluzeaud, S. Ben Mkaddem, M. Gibert, B. Poulain, M. R. Popoff, and A. Vandewalle. 2007. Pore-forming epsilon toxin causes membrane permeabilization and rapid ATP depletion-mediated cell death in renal collecting duct cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 293:F927-37.
- Cole, A. R., M. Gibert, M. R. Popoff, D. S. Moss, R. W. Titball, and A. Basak. 2004. *Clostridium perfringens* ϵ -toxin shows structural similarity to the pore-forming toxin aerolysin. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11:797-798.
- Finnie, J. W. 2004. Neurological disorders produced by *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin. *Anaerobe* 10:145-50.
- Finnie, J. W. 2003. Pathogenesis of brain damage produced in sheep by *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin: a review. *Aust Vet J* 81:219-21.
- Hunter, S. E., I. N. Clarke, D. C. Kelly, and R. W. Titball. 1992. Cloning and nucleotide sequencing of the *Clostridium perfringens* epsilon-toxin gene and its expression in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 60:102-110.
- Miyamoto, O., K. Sumitami, T. Nakamura, S. Yamagani, S. Miyatal, T. Itano, T. Negi, and A. Okabe. 2000. *Clostridium perfringens* epsilon toxin causes excessive release of glutamate in the mouse hippocampus. *FEMS Microbiol. Lett.* 189:109-113.
- Nagahama, M., H. Hara, M. Fernandez-Miyakawa, Y. Itohayashi, and J. Sakurai. 2006. Oligomerization of *Clostridium perfringens* epsilon-toxin is dependent upon membrane fluidity in liposomes. *Biochemistry* 45:296-302.
- Petit, L., M. Gibert, A. Gouch, M. Bens, A. Vandewalle, and M. R. Popoff. 2003. *Clostridium perfringens* Epsilon Toxin rapidly decreases membrane barrier permeability of polarized MDCK Cells. *Cell. Microbiol.* 5:155-164.
- Soler-Jover, A., J. Dorca, M. R. Popoff, M. Gibert, J. Saura, J. M. Tusell, J. Serratosa, J. Blasi, and M. Martin-Satue. 2007. Distribution of *Clostridium perfringens* epsilon toxin in the brains of acutely intoxicated mice and its effect upon glial cells. *Toxicon* 50:530-40.

Tableau de synthèses des caractéristiques et des possibilités de traitements

Nom de la toxine/Principales caractéristiques	Modes de contamination	Principaux signes cliniques	Diagnostic biologique	Traitement
<p>Entérotoxine B du staphylocoque</p> <p>Exotoxine protéique, produite par certaines souches de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Thermostable, elle persiste plusieurs jours dans les aliments et dans l'eau.</p> <p>Peu mortelle (létale à fortes doses) mais très incapacitante.</p> <p>La dose incapacitante par inhalation est de 0,4 µg/kg, la dose létale est de 27 µg/kg.</p>	<p>1 - par ingestion aliment ou boisson</p> <p>2 - par inhalation</p>	<p>Tableau clinique dépendant de la voie de contamination –</p> <p><u>En cas d'ingestion</u> : signes surtout digestifs</p> <p><u>En cas d'inhalation</u> : syndrome pseudo grippal d'installation brutale</p> <p>Principaux signes cliniques susceptibles d'être observés :</p> <ul style="list-style-type: none"> - fièvre, myalgies, céphalées (dans les 8 à 20 h après l'exposition) - signes respiratoires (dans les 3 à 15h après exposition) <p>toux non productive (pouvant se prolonger plusieurs semaines), dyspnée, douleurs thoraciques, détresse respiratoire et œdème pulmonaire.</p> <p>syndrome interstitiel à la Rx.</p> <ul style="list-style-type: none"> - signes digestifs <p>nausées et vomissements (dans les 3 à 15h après exposition)</p> <p>diarrhée en cas d'ingestion</p>	<p>Par immunodétection de la toxine.</p> <p><u>En cas d'intoxication par inhalation</u> : détection dans le sang ou l'urine prélevés précocement ou sur un écouvillonnage nasal prélevé dans les 24 heures suivant l'exposition.</p> <p><u>En cas d'intoxication alimentaire ou hydrique</u> : entérotoxine recherchée dans les vomissements ou dans les aliments incriminés.</p> <p>Le sérodiagnostic peut permettre un diagnostic rétrospectif.</p> <p>Conserver les échantillons au froid, si possible congelés avant leur analyse</p>	<p>Pas de vaccin</p> <p>Pas de traitement spécifique ou d'antidote</p> <p>Pas de traitement prophylactique</p> <p>Traitement symptomatique : remplissage en cas de choc, antalgiques, antipyrétiques.</p>

Nom de la toxine/Principales caractéristiques	Modes de contamination	Principaux signes cliniques	Diagnostic biologique	Traitement
<p>Toxine diphtérique</p> <p>Toxine de haut poids moléculaire (62 000 daltons) produite par des souches de <i>Corynebacterium diphteriae</i> porteuses du gène tox</p>	<p>Par inhalation</p>	<p>Au cours de la diphtérie, les manifestations toxiques sont responsables :</p> <ul style="list-style-type: none"> • D'atteinte myocardique précoce, • D'atteinte neurologique tardive (survenant après le 35ème jour) à type de polyradiculonévrite se traduisant par une paralysie du voile suivie d'une paralysie respiratoire et des membres. 	<p>Diagnostic biologique de la diphtérie :</p> <p>Repose sur la mise en évidence d'une souche toxigène de <i>Corynebacterium diphteriae</i>.</p> <p>Prélèvement : pharyngé, nasal ou cutané par écouvillonnage.</p> <p>Ensemencement à faire le plus rapidement possible puis isolement.</p> <p>Frottis possible avec examen microscopique direct (pour diagnostic de suspicion Bacilles G+).</p> <p>Recherche de la toxine :</p> <p>inoculation à des cobayes de la souche isolée puis autopsie des animaux pour recherche des lésions ou recherche de la toxine par réaction d'immunoprécipitation en milieu gélosé en présence d'un sérum antitoxique spécifique (test d'Elek)</p>	<p>Traitement curatif :</p> <p>Sérothérapie antidiphtérique à instaurer rapidement avant que la toxine ne soit fixée sur les cellules</p> <p>Doses : 40 000 à 100 000 UI (protocole de Besredka)</p> <p>Antibiothérapie par pénicilline ou érythromycine pour détruire la source de toxine, mais inutile si toxine purifiée aérosolisée.</p> <p>Traitement préventif :</p> <p>Vaccination obligatoire en France</p>

Nom de la toxine/Principales caractéristiques	Modes de contamination	Principaux signes cliniques	Diagnostic biologique	Traitement
<p>Saxitoxine</p> <p>Neurotoxine sécrétée par des dinoflagellés du genre Gonyaulax.</p> <p>Dose létale adulte : 5 à 10 mg. Symptômes après ingestion de 1 à 3 mg. Dose létale beaucoup plus faible par inhalation</p>	<p>1- Inhalation 2- Ingestion</p>	<p><u>Après ingestion</u> : pénétration rapide de la toxine dans le tractus digestif pour atteindre les cellules cibles (nerfs et muscles) dont elle bloque le canal sodium, empêchant toute dépolarisation, entraînant une paralysie. Délais d'apparition des symptômes : quelques min à quelques heures. Diplopie, difficultés à la déglutition, incoordination motrice. Possibilité également de maux de tête, de pertes de mémoire et de syndrome confusionnel.</p> <p><u>Après inhalation</u> : Insuffisance respiratoire liée à une paralysie des muscles par blocage de la conduction nerveuse. Décès en quelques minutes. Le diagnostic différentiel est difficile avec le botulisme et la ciguatera qui se traduisent en général par une symptomatologie digestive beaucoup plus marquée (nausées, vomissements). Seul, le laboratoire peut confirmer le diagnostic par immunodétection de la saxitoxine.</p>	<p>par immunodétection de la saxitoxine</p>	<p>Pas de traitement spécifique, ni de prophylaxie. Traitement symptomatique Médicaments vaso-actifs, Ventilation artificielle, Oxygénothérapie avec ou sans respiration artificielle</p>

GUIDE TOXINES Fiche n°5.1	DETECTION ET DECONTAMINATION ENVIRONNEMENTALES INTRODUCTION	Septembre 2010
--	--	---------------------------

Cette partie du guide « toxines » a comme objectif de définir une doctrine générale d'action. Ainsi, face à un évènement identifié ou revendiqué comme un attentat de nature NRBC, il s'agira :

- de mettre en place, dans l'attente de la confirmation de la nature de l'attentat dans un premier temps, les actions spécifiques au risque maximal (radiologique et chimique),
- après la levée de doute, excluant un risque radiologique ou chimique, les mesures de protection pour le risque biologique maximal seront appliquées, notamment en ce qui concerne le prélèvement d'échantillons environnementaux sur le site de l'évènement. Le délai nécessaire à l'identification précise d'un agent biologique est d'environ 24 heures,
- puis, en fonction de l'agent biologique identifié et dans notre cas de la nature de la toxine, les mesures de décontamination pourront alors être adaptées.

Dans ce processus, les informations policières, les résultats des premières investigations épidémiologiques et surtout les premières analyses médicales (diagnostic clinique des premiers cas) seront des données à exploiter pour orienter les analyses et identifier rapidement l'agent biologique en cause.

Les toxines sont des molécules relativement fragiles. Elles sont rapidement inactivées par des agents physiques comme la chaleur et des agents chimiques oxydants tels que le chlore.

La stabilité des toxines dans l'environnement est peu documentée et souvent difficilement exploitables car les données peuvent varier en fonction des degrés de pureté de la toxine. Des données obtenues sur la stabilité de la toxine botulique A utilisée à usage médical ont montré que la toxine était stable sous forme de complexe après précipitations acide et saline mais que la forme purifiée était très peu stable.

Les toxines protéiques actives par voie digestive sont généralement résistantes aux milieux aqueux à pH acide, par contre la toxine tétanique est rapidement dégradée en milieu acide.

De façon générale, différents facteurs sont susceptibles d'influencer la stabilité d'une toxine protéique. Les paramètres suivants peuvent être cités : température, photo oxydations, pressions, radiations, pH, effecteurs chimiques (ions métalliques ou non, acides, bases, solvants), concentration protéique, protéolyse, structure conformationnelle de la protéine. Ce dernier point est fondamental car chaque protéine est un polymère spécifique formé par l'enchaînement de 20 types courants d'acides aminés. Par ailleurs la conformation dépend aussi de liaisons de différents types :

- peptidiques qui génèrent une structure primaire,
- hydrogènes entre les groupes carbonyles et amides qui confèrent aux protéines une structure secondaire de type hélice ou feuillet,
- hydrophobes, électrostatiques, hydrogènes, Van der Waals, et covalentes (ponts disulfures) Ces liaisons permettent un repliement de la protéine sur elle-même, ce repliement constitue la structure tertiaire.

Il existe aussi des protéines constituées de sous unités protéiques liées par des associations non covalentes (on parle alors de structure quaternaire) ou par associations covalentes d'un ou plusieurs ponts disulfures (cas de la ricine). Du fait de la structure chimique très complexe des protéines, il est très difficile de généraliser sur la stabilité de ces molécules. En effet, certaines vont se dénaturer plus facilement à la chaleur, d'autres seront plutôt sensibles au froid. Chaque toxine d'intérêt doit pratiquement être étudiée indépendamment pour évaluer sa stabilité.

Concernant la **toxine botulique**, dans l'eau du robinet exposée à la lumière et à température ambiante, la toxine botulique A reste stable à 80% pendant un à deux jour(s). Il a été montré que dans l'eau d'un réservoir à pH 7-9, la toxine botulique A est inactivée en presque totalité en trois à six jours. En effet, un pH supérieur à 7,5 facilite la dissociation du complexe « toxine botulique » qui entraîne la libération de la neurotoxine beaucoup moins stable que le complexe.

Concernant la **ricine** (extrait brut, non purifié de graines de Ricin de *Ricinus Communis*), dans l'eau du robinet exposée à la lumière, à température ambiante, l'extrait brut de ricine reste stable pendant au minimum 7 jours. Les résultats obtenus à l'obscurité ont montré la stabilité de l'extrait brut durant 7 jours.

Concernant la **saxitoxine**, dans l'eau du robinet exposée à la lumière, à température ambiante, la saxitoxine reste stable pendant au minimum 7 jours. Les résultats obtenus à l'obscurité ont montré la stabilité de la saxitoxine durant 7 jours.

DETECTION ENVIRONNEMENTALE :

La détection d'une agression biologique doit être précoce et rapide pour donner l'alerte et appliquer au plus tôt des mesures efficaces de protection et de prévention. On distingue trois phases :

- la **détection d'alerte** pour vérifier la véracité de l'agression dans les délais les plus courts possibles,
- la **détection de contrôle** qui repose sur des techniques rapides d'identification donnant des résultats en une à vingt-quatre heures,
- la **détection de confirmation** qui valide les phases précédentes à l'aide de techniques de référence mises en œuvre dans des laboratoires spécialisés, avec un délai souvent supérieur à quarante-huit heures.

Deux typologies d'évènements peuvent être distinguées dans le cas d'une dissémination par aérosolisation ou dans le cas d'une contamination du réseau d'eau potable ou de la chaîne alimentaire :

1. Survenue de cas humains de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autre toxine et/ou revendication terroriste *a posteriori*,
2. Revendication ou suspicion d'un acte terroriste dans un lieu déterminé.

Dans le premier cas, la détection environnementale ne pourra intervenir qu'à distance de la dissémination de la toxine, dans l'hypothèse où l'enquête épidémiologique autour des cas permet de cibler un lieu commun ou une zone commune d'exposition. Le délai écoulé entre la dissémination et la recherche rend plus aléatoire les résultats des investigations environnementales ou de recherche de la source alimentaire. Néanmoins celle-ci pourrait permettre, en cas de signal positif, de confirmer les conclusions tirées de l'enquête épidémiologique et constituer un élément supplémentaire d'aide à la décision notamment pour l'extension de la prise en charge médicale. En règle générale, pour les toxines, le délai pendant lequel elles sont détectables dans l'environnement est assez court mais *a priori* suffisamment long pour que la toxine, selon l'origine de la contamination, soit encore présente après apparition des premiers cas.

En cas de survenue de cas de botulisme, d'intoxication à la ricine, ou à d'autres toxines, les maladies induites n'étant pas transmissibles par contacts inter-humains, il sera rapidement possible de déterminer si l'origine du foyer est accidentelle ou provoquée. Les probabilités de retrouver des traces de toxines seront plus fortes si la voie de dissémination utilisée est la voie alimentaire. En cas d'aérosolisation, il sera préférable de rechercher la toxine (une fois la zone concernée identifiée) par des prélèvements de surface car les risques d'aérosolisation secondaire sont très limités.

Dans le deuxième cas, l'objectif de la détection est, dès lors que la menace est jugée crédible, de confirmer ou d'infirmer la présence de toxine et de mettre en œuvre le plus précocement possible, en cas de résultats positifs, les mesures de contrôle et de prise en charge des personnes exposées.

Dès lors que la zone de l'attentat a été déterminée, les objectifs de la détection sont les suivants :

- infirmer ou confirmer la réalité de l'attentat en définissant la toxine en cause ; cette étape intervient dans les meilleurs délais, et si possible sur place, afin de prendre toutes les mesures nécessaires à la protection des personnes dans l'attente d'une éventuelle confirmation ; en parallèle, des prélèvements sont réalisés par des officiers de police judiciaire des cellules spécialisées de la police et de la gendarmerie afin d'établir la preuve de l'agression,
- délimiter la ou les zones de contamination (locaux, réseaux d'eau, chaînes de production agro-alimentaire), devant faire l'objet d'un traitement de décontamination,
- s'assurer de l'efficacité des opérations de décontamination avant réoccupation des locaux concernés, reprise de la distribution d'eau ou remise en fonctionnement de la chaîne de production alimentaire.

Les fiches suivantes apportent des précisions quant aux modalités d'intervention.

En cas de multiplication des sites touchés, il conviendra de prioriser les actions en déterminant les lieux et dans un second temps les échantillons à analyser en priorité (cf. arbre d'aide à la décision en annexe).

DECONTAMINATION DES LOCAUX, EQUIPEMENTS, MATERIELS, RESEAUX D'EAU OU CHAINES ALIMENTAIRES

La décontamination des locaux, équipements, matériels, réseaux d'eau ou chaînes alimentaires potentiellement contaminés par une toxine s'inscrit dans le cadre général des mesures de contrôle du risque de propagation d'un agent biologique. Les méthodes de décontamination sont décrites dans les fiches ci-dessous.

Les opérations de décontamination concernent essentiellement :

En cas d'aérosolisation

- les lieux et locaux concernés par l'attentat (locaux fermés type bureaux ; semi-ouverts type gare, métro ; ouverts type stade, quartier d'une ville...). Si ces locaux sont équipés de circuits de ventilation, ces derniers doivent être arrêtés le plus précocement possible lors d'une alerte ce qui suppose une connaissance préalable du fonctionnement des systèmes et de leur vulnérabilité par le gestionnaire des lieux,
- le matériel présent dans ces lieux (mobilier, matériel informatique...),
- les effets personnels (dont vêtements, clés, pièces d'identités...).

Sur les sites des attentats, des opérateurs professionnels devront procéder à ces opérations de décontamination, il pourra s'agir de prestataires de services spécialisés dans les opérations de désinfection (domaine pharmaceutique ou agro-alimentaire par exemple). Ils devront utiliser des procédés agréés (ils n'existent pas de normalisation permettant d'agréer des procédés de décontamination vis-à-vis des toxines, par ailleurs l'opportunité de désinfecter avec des diffuseurs de formaldéhydes est discutable car leur efficacité est très controversée) lorsqu'ils existent et contrôler l'efficacité de leur intervention. Ils devront également s'équiper de tenues de protection individuelles adéquates.

En fonction de la situation, il pourra être procédé en deux temps pour les opérations de décontamination :

- dans un premier temps, éviter que les conséquences de l'attentat ne s'aggravent,
- dans un second temps, remettre le local en état en vue d'une réoccupation des lieux, ce qui suppose éventuellement la combinaison de plusieurs opérations de décontamination en fonction de l'agent identifié et de la configuration des lieux.

Sans remise en état préalable, ces locaux ou matériels seront considérés comme présentant un risque et ne pourront retrouver l'usage pour lequel ils sont prévus ; certains matériels ne pouvant pas faire l'objet d'une décontamination efficace devront être détruits par incinération. Dans une situation où de nombreux lieux et locaux seraient touchés, leur fermeture et donc inaccessibilité à moyen ou long terme devra être prévue. La décontamination environnementale est une étape fondamentale puisqu'elle doit permettre la remise en état des milieux et matériels contaminés et éviter la paralysie de systèmes (ex : établissements de santé), des moyens de transport, l'impossibilité d'utiliser certains matériels ou encore d'accéder à des lieux publics tels que les gares, aéroports ou autres lieux indispensables au fonctionnement de la vie courante. Du fait des caractéristiques physico-chimiques des protéines, les premières opérations de décontamination des locaux pourraient consister en un nettoyage approfondi avec des produits détergents spécifiques des protéines ou avec de l'eau de Javel à 0.8% de chlore actif (solution polyvalente de décontamination – SPD) ce qui devrait permettre d'éliminer la toxine sans générer de dommages environnementaux collatéraux graves. Les déchets générés par la décontamination devront dans la mesure du possible être récupérés.

En cas de contamination d'un réseau d'alimentation en eau potable

- les usines de traitement de l'eau potable (introduction volontaire de l'agent de la menace dans l'eau brute ou partiellement traitée ou dans un produit utilisé pour le traitement),
- les réseaux de distribution (réservoirs et canalisations),
- les réseaux intérieurs et les équipements individuels de traitement de l'eau.

En cas de contamination d'une chaîne alimentaire

Décontamination en fonction du niveau de la contamination des denrées - matière première ou produit en transformation ou produit fini -, et en aval de la contamination :

- Etablissement agro alimentaire de collecte,
- et/ou de transformation,
- et/ou de distribution,
- et/ou de stockage,
- et/ou de transport.

Les lignes directrices sur les procédures de décontamination à appliquer sont décrites dans les fiches ci-dessous.

Comme pour les aspects relatifs à la détection, les zones à traiter devront faire l'objet d'une priorisation. (cf. arbre d'aide à la décision)

Références

Guide peste, charbon, tularémie

Les risques NRBC savoir pour agir. Sous la direction d'Y.Buisson. Edition Xavier Montauban.

Popoff M.R. La menace terroriste liée à la toxine botulique. In : Menace terroriste, Approche médicale, John Libbey Eurotext, 2006 ; page 255-265

Rapport Institut Pasteur de Lille – Veolia Environnement – Suez Environnement « Etude du comportement des agents de la menace terroriste en milieu hydrique et évaluation de l'efficacité des procédés actuels de traitement utilisés dans les filières de production-traitement de l'eau destinée à la consommation humaine ainsi que l'efficacité d'autres méthodes, visant à inactiver les agents de la menace terroriste ». Mars 2007

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.2</p>	<p>CONDUITE A TENIR FACE A UNE SUSPICION D'ATTENTAT BIOTERRORISTE</p> <p>FICHE A L'ATTENTION DES GESTIONNAIRES D'ETABLISSEMENTS RECEVANT DU PUBLIC (ERP)</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	--	------------------------------

OBJECTIF :

INDIQUER AUX GESTIONNAIRES ET/OU PROPRIETAIRES D'ETABLISSEMENTS RECEVANT DU PUBLIC ET AUX PERSONNES EXPOSEES LA CONDUITE CONSEILLEE AFIN DE LIMITER LES EFFETS POTENTIELLEMENT DANGEREUX DU PRODUIT SUSPECT.

1. Fondamentaux :

Mettre fin dès que possible à l'exposition (air/eau/aliment).

2. Circonstances :

Suite à une revendication ou sur la base des premières données épidémiologiques, un ERP apparaît comme le lieu d'une contamination :

- Il existe une forte suspicion de contamination de l'air, de l'eau ou d'aliments, en particulier en cas de revendication,
- plusieurs cas suspects (ou confirmés) de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autre toxine, géographiquement regroupés ou disséminés sans aucune source alimentaire commune ;

3. Intervenants :

- Tout service contacté dans le cadre du signalement de l'événement : police, gendarmerie, services d'incendie et de secours, SAMU – Centre 15, Préfecture, ARS, COGIC, InVS ;
- Propriétaires, gestionnaires des locaux et éventuellement leurs services de sécurité et leurs services techniques.

4. Précautions préalables :

AIR

Les établissements recevant du public (ERP) de 1^{ère} et 2^{ème} catégories dotés d'un circuit de ventilation et de traitement d'air doivent avoir réalisé un état des lieux de la vulnérabilité de leurs installations et prévu des consignes de sécurité permettant d'interrompre le fonctionnement des systèmes de ventilations et d'isoler les zones éventuellement contaminées. Il est en outre recommandé à tous les ERP de disposer d'un plan à jour de leurs circuits de ventilation et de traitement de l'air ainsi que de faire connaître aux personnels sur place les modalités d'arrêt d'urgence de ces systèmes. L'accès au système pilotant le circuit de ventilation doit être protégé contre les intrusions.

Les gaines de ventilation doivent être entretenues régulièrement.

EAU

Les plans des réseaux d'eau des établissements recevant du public (ERP) doivent être tenus à jour et disponibles.

Le gestionnaire de l'ERP ou le personnel technique doit être capable de couper rapidement l'arrivée de l'eau potable si cette dernière est suspectée.

ALIMENT

Les établissements recevant du public pouvant être concernés par une revendication ou suite à une enquête sur des cas avérés, pourraient être les établissements de restauration collective ou commerciale.

Les exploitants du secteur alimentaire doivent disposer de systèmes ou procédures d'établissement de la traçabilité correcte des aliments reçus et fournis (l'article 18 du règlement CE 178/2002). Celle-ci permettra une intervention ciblée rapide.

5. Matériel nécessaire :

Plans des réseaux d'air et des réseaux d'eau.

Protocole :

Sur place, il convient d'identifier le responsable de la sécurité du local concerné et de lui transmettre la conduite à tenir, à savoir dans l'ordre :

AIR

- Arrêter les systèmes de ventilation et se procurer, lorsqu'il existe, l'état des lieux et l'analyse de la vulnérabilité des systèmes de traitement d'air et des installations de ventilation (ERP 1^{ère} et 2^{ème} catégories). En cas d'impossibilité d'arrêter rapidement le système, les bouches de ventilation du ou des lieux concernés devront être rapidement obstruées. Dans le cas d'une aérosolisation, tous les locaux concernés par le même système de traitement de l'air devront être considérés comme suspects.
- Limiter la contamination des personnes exposées : demander, dans l'attente de l'arrivée des secours et de l'équipe d'analyse, aux exposés potentiels de :
 - laisser tout en place : ne rien toucher, renifler, goûter...
 - d'éviter tout courant d'air (fermer les fenêtres et tout autre ouvrant)
 - sortir de la pièce pour s'isoler dans une autre pièce voisine en bougeant le moins possible :
 - éviter les contacts, ne pas serrer les mains, éviter de se frotter le visage, ne pas boire, ne pas manger, ne pas fumer,
 - se laver les mains, réserver des toilettes aux personnes présentes dans les lieux si possible (non utilisées par les non-exposés), se protéger les voies respiratoires par un masque s'il en existe à disposition et en nombre suffisant dans l'établissement (masque chirurgical) ou par tout autre moyen même sommaire type mouchoir apposé sur la bouche et le nez, en particulier dans les lieux ouverts.

EAU

- Arrêter l'alimentation en eau potable à l'entrée de l'ERP si ce vecteur est suspecté.
- Ne pas consommer l'eau du réseau.

ALIMENT

- Arrêter l'utilisation et la diffusion de l'aliment suspecté et procéder à son retrait.
- Prévenir les services vétérinaires départementaux

DANS TOUS LES CAS

- Une fois les lieux évacués :
 - s'il s'agit d'un local : le fermer et condamner les ouvrants (portes, fenêtres, ...)
 - s'il s'agit de lieux ouverts, isoler la zone le plus efficacement possible pour limiter la dispersion et empêcher tout nouveau contact avec des personnes non protégées.

- Interdire l'accès au local ou aux lieux concernés et le signaler. La réouverture ne peut intervenir qu'après la levée de doute et/ou des résultats d'analyse environnementaux négatifs, intervenant le cas échéant après des opérations de décontamination. Si la condamnation provisoire du lieu concerné porte préjudice au maintien des activités de l'établissement, il peut être procédé à sa décontamination immédiate après accord, le cas échéant, du magistrat chargé de l'affaire.
- Commencer à relever les identités et coordonnées des personnes présentes dans les lieux concernés.

6. Références

Circulaire DGS/DGUHC/DDSC n°114 du 7 mars 2003 relative aux actions de prévention et de protection des installations de distribution de l'air dans les établissements recevant du public face à une contamination intentionnelle ou accidentelle de nature chimique ou biologique.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.3</p>	<p>CONDUITE A TENIR FACE A UNE SUSPICION D'ATTENTAT BIOTERRORISTE</p> <p>FICHE A L'ATTENTION DES GESTIONNAIRES DE RESEAUX D'ALIMENTATION EN EAU POTABLE ET D'USINE D'EMBOUTEILLAGE</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	--	------------------------------

OBJECTIF :

INDIQUER AUX GESTIONNAIRES DE RESEAUX (PUBLICS ET PRIVES) CONCERNES LA CONDUITE CONSEILLÉE AFIN DE LIMITER LES EFFETS POTENTIELLEMENT DANGEREUX DU PRODUIT SUSPECT.

1. Fondamentaux :

- analyse de l'eau du réseau
- mesures de protection de la population/moyens de lutte
- levée de l'alerte

2. Circonstances :

Suite à une revendication ou sur la base des premières données épidémiologiques, un réseau d'alimentation ou une usine d'embouteillage apparaît comme la source d'une contamination :

- Il existe une forte suspicion de contamination d'un réseau ou d'une usine, en particulier en cas de revendication,
- plusieurs cas suspects (ou confirmés) de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autre toxine, géographiquement regroupés et sans source alimentaire commune,
- plusieurs épidémies (suspectées ou confirmées) liées à des toxines, géographiquement disséminées, sans source alimentaire commune,
- cas confirmés de botulisme dus à une toxine inhabituellement retrouvée en France.

3. Intervenants :

- Tout service contacté dans le cadre du signalement de l'événement : police, gendarmerie, services d'incendie et de secours, SAMU – Centre 15, Préfecture, ARS, COGIC, InVS ;
- Gestionnaires des réseaux y compris les communes ;
- Laboratoire du réseau national pilote Biotox-Eau des laboratoires agréés spécialisés dans la recherche d'agents de la menace de la zone de défense concernée.

4. Précautions préalables :

La sécurité de l'alimentation en eau potable (AEP) vise à en assurer la disponibilité, tant en volume qu'en qualité. Les obligations de sécurité sont fixées notamment par le code de la santé publique (CSP). L'article R.1321-23 du CSP précise que « pour les installations de production et les unités de distribution d'eau desservant une population de plus de 10 000 habitants, la personne responsable de la production ou de la distribution d'eau réalise régulièrement une étude caractérisant la vulnérabilité de ses installations de production et de distribution d'eau vis-à-vis des actes de malveillance et la transmet au préfet, selon les modalités fixées par un arrêté des ministres chargés de l'intérieur et de la santé ».

Les modalités d'évaluation de la vulnérabilité des systèmes d'alimentation en eau potable sont décrites dans le guide édité par le ministère chargé de la santé et disponible sur le site internet du ministère de la santé.

Le plan Vigipirate réactualisé a été diffusé par le Premier ministre en 2007. Il a confirmé le niveau d'alerte et de vigilance rouge dans le cas général et précisé les mesures à appliquer à compter du 22 janvier 2007. S'agissant des systèmes d'alimentation en eau destinés à la consommation humaine (eau des réseaux publics et eaux conditionnées), les mesures qui s'appliquent sont toujours des mesures de niveau jaune et orange et sont sensiblement les mêmes que celles qui s'appliquaient avant la diffusion du plan réactualisé. Deux circulaires conjointes Santé/Écologie précisant le détail technique des nouvelles mesures sont en cours de rédaction.

En attendant la parution de ces documents, les opérateurs doivent mettre en œuvre les mesures suivantes :

- les mesures de la posture permanente de sécurité qui visent à prévenir les actes de terrorisme et qui doivent être mises en œuvre quand bien même le plan Vigipirate ne serait pas activé (cf. annexe 1 de la note DGS/SD7A/174 du 19 février 2007 concernant le plan gouvernemental "Vigipirate"),
- les mesures complémentaires qui s'appliquent depuis le 22 janvier 2007 (cf. annexe 2 de la note susmentionnée),
- les mesures figurant à l'annexe 3 de la note susmentionnée s'ils disposent d'un laboratoire figurant dans le réseau Biotox - Piratox.

La mesure "rappeler les consignes de sur-chloration" ne signifie pas que les mesures de surchloration s'appliquent, il convient juste de rappeler aux exploitants que si les mesures étaient activées par l'autorité compétente, ils devraient être en mesure de les appliquer dans un délai de trois jours.

Pour mémoire, au niveau orange : maintien d'une concentration en chlore libre de 0,3 mg/l (ou en bioxyde de chlore de 0,15 mg/l) en sortie des réservoirs avec possibilité de déroger à cette mesure sous réserve de respecter les quatre conditions suivantes :

- avoir réalisé récemment une étude d'évaluation de la vulnérabilité des systèmes d'alimentation,
- avoir mis en sécurité les ouvrages les plus vulnérables identifiés,
- disposer d'équipements de sur-chloration en bon état d'entretien,
- justifier d'une conformité bactériologique supérieure à 99% au cours des douze derniers mois.

Au niveau rouge : maintien d'une concentration en chlore libre de 0,3 mg/l (ou en bioxyde de chlore de 0,15 mg/l) en sortie des réservoirs et de 0,1 mg/l (ou en bioxyde de chlore de 0,05 mg/l) en tout point du réseau de distribution d'eau.

La circulaire DGS n°524/DE n°19-03 du 7 novembre 2003 relative aux mesures à mettre en œuvre en matière de protection des systèmes d'alimentation en eau destinée à la consommation humaine, y compris les eaux conditionnées, dans le cadre de l'application du plan Vigipirate reprend les dispositions de la circulaire du 3 octobre 2003 en ce qui concerne les modalités d'information des responsables publics et privés des systèmes d'alimentation publique d'eau potable, ainsi que des responsables des usines d'embouteillage d'eaux, dans le cadre du plan Vigipirate.

La circulaire DGS n°2003/467/DE n°PBMP143 du 3 octobre 2003 relative aux modalités d'application des différents niveaux d'alerte nationale du plan Vigipirate aux systèmes d'alimentation en eau destinée à la consommation humaine (eau des réseaux publics et eaux conditionnées) précise les modalités des niveaux du plan Vigipirate en ce qui concerne la sécurité sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine (eau des réseaux publics et eaux conditionnées). Elle concerne l'ensemble des collectivités et les responsables des installations de traitement et de distribution quelles que soient leurs tailles ou leurs capacités de production. Les instructions contenues dans cette circulaire se substituent aux dispositions figurant dans les circulaires DGS n°2001/487/DE du 11 octobre 2001 et DGS n°2002/623/DE du 23 décembre 2002.

5. Protocole :

Voir la note DGS/SD7A/174 du 19 février 2007 concernant le plan gouvernemental "Vigipirate"

6. Références

Note DGS/SD7A/174 du 19 février 2007 concernant le plan gouvernemental "Vigipirate"

La circulaire DGS n°524/DE n°19-03 du 7 novembre 2003 relative aux mesures à mettre en œuvre en matière de protection des systèmes d'alimentation en eau destinée à la consommation humaine, y compris les eaux conditionnées, dans le cadre de l'application du plan VIGIPIRATE.

La circulaire DGS n°2003/467/DE n°PBMP143 du 3 octobre 2003 relative aux modalités d'application des différents niveaux d'alerte nationale du plan Vigipirate aux systèmes d'alimentation en eau destinée à la consommation humaine (eau des réseaux publics et eaux conditionnées).

Les systèmes d'alimentation en eau potable. Evaluer leur vulnérabilité. Ministère de la santé et des solidarités. Mars 2007.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.4</p>	<p>CONDUITE A TENIR FACE A UNE SUSPICION D'ATTENTAT BIOTERRORISTE</p> <p>FICHE A L'ATTENTION DES EXPLOITANTS DE CHAINES DE PRODUCTION AGRO-ALIMENTAIRE</p>	<p>Septembre 2010</p>
--	--	------------------------------

OBJECTIF :

INDIQUER AUX EXPLOITANTS DU SECTEUR ALIMENTAIRE CONCERNES LA CONDUITE CONSEILLÉE AFIN DE LIMITER LES EFFETS POTENTIELLEMENT DANGEREUX DU PRODUIT SUSPECT.

1. Fondamentaux :

Sources de contamination potentielles :

- matières premières contaminées y compris épices, eau du réseau, etc.
- environnement de travail contaminé (ex : par aérosols)
- déversement direct en cours de fabrication ou par corruption de produits finis (acte de malveillance).

2. Circonstances :

Suite à une revendication ou sur la base des premières données épidémiologiques, un produit alimentaire apparaît comme la source d'une contamination :

- Il existe une forte suspicion de contamination alimentaire ou de l'eau, en particulier en cas de revendication,
- plusieurs cas suspects (ou confirmés) de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autres toxine, géographiquement regroupés ou disséminés, avec une forte suspicion d'origine alimentaire mais par une source alimentaire commune non habituelle pour cette toxine,
- cas confirmés de botulisme dus à une toxine inhabituellement retrouvée en France.

3. Intervenants :

- Tout service contacté dans le cadre du signalement de l'événement : police, gendarmerie, services d'incendie et de secours, SAMU – Centre 15, Préfecture, DDASS, DDSV, DDCCRF, COGIC, InVS,
- Exploitants de chaîne de production, de transport et de distribution,
- Fournisseurs de matières premières suspectées.

4. Précautions préalables :

Mise en œuvre des préconisations figurant dans le guide des recommandations pour la protection de la chaîne alimentaire contre les risques d'actions malveillantes criminelles ou terroristes :

- Mesures de protection physiques des accès,
- Contrôle des flux de circulation,
- Sécurité lié au personnel de l'établissement,
- Gestion des stocks,
- Process,
- Sécurité informatique.

Les exploitants du secteur alimentaire doivent disposer de systèmes ou procédures d'établissement de la traçabilité des produits ce qui permettra une intervention ciblée rapide. (Application des articles 18, 19 et 20 du règlement CE 178/2002 sur la traçabilité et les premières mesures en cas de suspicion sur un produit et les responsabilités des exploitants du secteur alimentaire).

5. Matériel nécessaire :

Traçabilité amont et aval des denrées alimentaires.

Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié.

6. Protocole :

L'objectif est de faire cesser toute exposition alimentaire à risque (rappel : obligation réglementaire du règlement (CE) n° 178/2002, notamment les articles 14 à 20).

L'hypothèse pessimiste à évaluer en premier est celle d'une contamination d'un aliment par une toxine à des niveaux élevés.

Deux scénarii sont à prévoir :

1/ L'entreprise reçoit une revendication d'un acte de malveillance impliquant la contamination de sa chaîne alimentaire (ou est informée par un fournisseur d'une possible contamination de matière première ; ou est alimentée par un réseau d'eau potentiellement contaminé...).

Les délais de réponse sont courts, compte tenu de la gravité du danger, la situation est celle d'une urgence. Le responsable de l'entreprise alimentaire informe sans délai les autorités locales (en application de l'article 19 du règlement (CE) n° 178/2002) et stoppe temporairement les flux de denrées, à titre de précaution. Il s'agit alors d'arrêter une chaîne de fabrication, de transport ou la distribution des denrées suspectées d'être contaminées.

Le professionnel peut se référer au guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié.

Sans attendre de confirmation de la contamination par des résultats d'analyse dans les produits finis, l'entreprise, en collaboration avec les autorités sanitaires, évalue si des denrées potentiellement contaminées ont pu être mises sur le marché et achetées ou consommées (en fonction de la période potentielle de contamination et des flux de production et de distribution). Ceci permet d'identifier des dates de fabrication et lots potentiellement contaminés.

Si oui, un message informant les consommateurs d'une suspicion de contamination de denrées avec recommandation de ne pas consommer ou acheter la denrée est diffusé sans délai (TV, radio). Il indique que des investigations sont en cours pour vérifier la réalité de la menace (notamment analyses chimiques et microbiologiques) mais que la précaution est de ne pas consommer les produits suspects. Les fournisseurs, distributeurs et autres clients sont informés de la menace et du risque potentiel et doivent bloquer la commercialisation de tout produit suspect. L'entreprise met à disposition des autorités sanitaires toute information utile à l'enquête alimentaire, notamment la documentation du plan de maîtrise sanitaire (dont les données de traçabilité).

Les autorités sanitaires, en collaboration avec l'exploitant, procèdent à une analyse des dangers d'introduction, de développement ou de survie (pour l'agent biologique ou la toxine suspectée), en examinant les possibles causes (selon les « 5 M »⁵), notamment en fonction des procédés de fabrication et de distribution (conditions de température, humidité, pH, ...). Le risque de contamination croisée est pris en compte. En cas de besoin, pour l'évaluation des risques sanitaires, les autorités demandent l'appui technique des agences sanitaires (ANSES, InVS), de la brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires pour les investigations, ou de tout expert identifié.

Aux fins de lever les hypothèses, des prélèvements de denrées alimentaires (matières premières, produits intermédiaires et produits finis) ou dans l'environnement de production (eau, air...) sont effectués par les autorités sanitaires, pour une recherche de l'agent biologique ou de la toxine suspectée. Les analyses sont effectuées par un laboratoire agréé (ou le LNR dédié).

⁵ Matières, milieu, matériel, méthodes, main d'œuvre.

Si la contamination des denrées est avérée, les denrées sont détruites ou retraitées et en cas de distribution et de mise sur le marché, la procédure de retrait ou de rappel des produits est mise en œuvre conformément au guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié.

2/ L'entreprise est informée par les autorités sanitaires de la suspicion d'un risque lié à des aliments qu'il a produit, du fait des résultats d'une enquête épidémiologique (consommateurs malades) ou d'un contrôle officiel sur ses produits ou sur des produits amont.

L'entreprise, en collaboration avec les autorités sanitaires, évalue quels lots de produits sont suspectés. Des analyses de confirmation de la contamination dans les produits finis et les matières premières suspectes sont effectuées si possible. Les causes de contamination et la période de contamination de la chaîne alimentaire sont recherchées. L'hypothèse d'une contamination durable liée à de faibles contaminations résiduelles dans l'environnement de travail ou à des contaminations croisées, est testée.

Si un ou plusieurs produits sont identifiés, l'exploitant met en œuvre les procédures de gestion appropriées en collaboration avec l'autorité sanitaire (blocage, retrait, rappel, information des fournisseurs et clients) conformément au guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire.

La nécessité éventuelle d'une information du grand public est appréciée par les autorités compétentes (DGAL, DGS).

7. Références

Règlement (CE) n° 178/2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.

Guide des recommandations pour la protection de la chaîne alimentaire contre les risques d'actions malveillantes criminelles ou terroristes du ministère de l'agriculture et de la pêche 2007.

Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié ; 2005.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.5</p>	<p style="text-align: center;">DETECTION</p> <p style="text-align: center;">FICHE A L'ATTENTION DES EQUIPES DE PRELEVEMENT</p>	<p style="text-align: center;">Septembre 2010</p>
--	--	--

OBJECTIF :

CONFIRMER OU INFIRMER LA PRESENCE DE LA TOXINE DANS UN LOCAL, DANS UN RESEAU D'ALIMENTATION EN EAU POTABLE, DANS DES EAUX EMBOUTEILLEES SUR UNE CHAINE ALIMENTAIRE OU DANS DES ALIMENTS.

1. Fondamentaux

La résistance des toxines dans l'environnement est relativement faible.

2. Circonstances

Suite à une revendication ou sur la base des premières données épidémiologiques, une source de contamination est suspectée :

- Il existe une forte suspicion de contamination de l'air, de l'eau ou d'aliments, en particulier en cas de revendication,
- plusieurs cas suspects (ou confirmés) de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autre toxine, géographiquement regroupés et sans source alimentaire commune,
- plusieurs épidémies (suspectées ou confirmées) liées à des toxines, géographiquement disséminées, sans source alimentaire commune,
- plusieurs cas suspects (ou confirmés) de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autre toxine, géographiquement regroupés ou disséminés, avec une forte suspicion d'origine alimentaire mais par une source alimentaire commune non habituelle pour cette toxine,
- cas confirmés de botulisme dus à une toxine inhabituellement retrouvée en France.

Les actions de cette fiche sont à mettre en œuvre après la prise en charge des personnes exposées.

3. Intervenants

AIR ET SURFACES

Les forces de l'ordre habilitées à pratiquer ce type de prélèvements.

EAU

Les dix laboratoires agréés chargés de l'analyse des eaux d'alimentation en cas d'alerte ou de menace terroriste dont la liste est en annexe de ce guide.

ALIMENTS

La direction départementale en charge des services vétérinaires est le point d'entrée pour le choix des laboratoires ad hoc.

S'il existe une forte suspicion d'évènement malveillant, les prélèvements doivent être référencés afin de garantir leur traçabilité, au moyen du numéro unique attribué à l'évènement par la Cellule Nationale de Conseil (Cellule du COGIC). Par ailleurs, et dans la mesure du possible les prélèvements devraient être effectués en présence d'un officier de police judiciaire pour attester de l'aspect légal de la procédure.

4. Précautions préalables :

EAU

Le plan Vigipirate réactualisé a été diffusé par le Premier ministre. Il a confirmé le niveau d'alerte et de vigilance rouge dans le cas général et précisé les mesures à appliquer à compter du 22 janvier 2007. S'agissant des systèmes d'alimentation en eau destinées à la consommation humaine (eau des réseaux publics et eaux conditionnées), les mesures qui s'appliquent sont toujours des mesures de niveau jaune et orange et sont sensiblement les mêmes que celles qui s'appliquaient avant la diffusion du plan réactualisé. Deux circulaires conjointes Santé/Écologie précisant le détail technique des nouvelles mesures sont en cours de rédaction.

En attendant la parution de ces documents, les laboratoires du réseau national pilote de laboratoires agréés chargés des analyses de la qualité des eaux spécialisés dans la détection des agents de la menace doivent mettre en œuvre les mesures figurant à l'annexe 3 de la note DGS/SD7A/174 du 19 février 2007 concernant le plan gouvernemental "Vigipirate » :

- **Posture permanente de sécurité** : Pour les laboratoires disposant d'agents pathogènes ou de produits dangereux dans le domaine NRBC pouvant présenter un risque pour la santé publique : définir et tenir à jour en permanence les listes des personnes et entreprises ayant un droit d'accès.
- **Mesures applicables à partir du 22 janvier 2007** : Vérifier les conditions de montée en puissance opérationnelle et procéder à des tests de réactivité à l'initiative des chefs d'unité de laboratoire.

Le financement des prélèvements et analyses d'eau est à la charge de l'exploitant.

Informers les gestionnaires d'établissements recevant du public et appliquer la fiche 5.2

Informers les gestionnaires de réseaux AEP et appliquer la fiche 5.3

Informers les exploitants de chaîne alimentaire et appliquer la fiche 5.4

Confirmer la nécessité de réaliser un (des) prélèvement(s).

ALIMENT

Les prélèvements sont réalisés et pris en charge par ou sous contrôles des services officiels.

5. Matériel nécessaire :

Le principe retenu : en l'absence de revendication, partir sur la situation la plus défavorable qui est celle des spores de charbon donc reprise des mesures décrites dans le plan PCT.

Pour les intervenants : protections individuelles : pour pénétrer dans un local *a priori* contaminé, les personnes doivent porter au minimum :

- un masque FFP3,
- des lunettes de protection,
- une double paire de gants à usage unique,
- une paire de sur-chaussures à usage unique,
- une combinaison à usage unique.

Remarque - La malle d'intervention sur événements biologiques (SGDN) développée pour équiper les services de secours renferme les matériels de protection nécessaires aux intervenants : tenues à usage unique, masques, lunettes, gants, sur-chaussures. Cinquante exemplaires ont été répartis sur les agglomérations définies comme prioritaire par le ministère de l'intérieur au sein des services de police, de gendarmerie et des services, d'incendie et de secours.

Pour les prélèvements d'eau et d'aliments : gants, lunettes, blouses, masques anti-poussière, microbiologiques ou à gaz ou FFP3 (à affiner et à graduer en fonction de la menace).

Pour les prélèvements : selon protocole de prélèvement en vigueur : prélèvements de surface s'il n'y a pas de trace visible de poudre. La malle d'intervention sur événements biologiques contient le matériel nécessaire pour les prélèvements de surface et le mode opératoire.

6. Protocole :

Le protocole de prélèvement et d'analyses de la qualité des eaux à mettre en œuvre en cas de contamination ou de suspicion de contamination des systèmes d'AEP par des agents de la menace (classé confidentiel défense) décrit les modalités pratiques.

Réalisation des prélèvements selon les protocoles habituels des intervenants qualifiés des services d'incendie et de secours, de la police ou de la gendarmerie (écouvillonnage de surface...). Un Officier de police judiciaire (OPJ) doit être présent pour garantir la procédure judiciaire. En pratique et en fonction de l'urgence sanitaire, les premiers prélèvements peuvent être réalisés en l'absence d'un OPJ.

Remarque - *Lorsqu'ils existent, les tickets détecteurs sont une méthode rapide d'identification de terrain basée sur une réaction antigènes-anticorps (résultat obtenu en 15 minutes). Ils permettent une recherche en première intention des toxines A et B. Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'agent biologique. Tout résultat doit être confirmé par le laboratoire.*

Remarque - *D'autres moyens de détection rapide sont en cours de développement et pourront être utilisés sur le terrain dès qu'ils auront été testés. Une confirmation en laboratoire restera nécessaire.*

Transfert des prélèvements, sous triple emballage vers le laboratoire de zone du réseau Biotox - Piratox ou vers le Centre national de référence (CNR). Les modalités d'envoi sont à définir avec le laboratoire destinataire et le transport doit respecter la réglementation en vigueur concernant certains agents responsables de maladies infectieuses, micro-organismes pathogènes et toxines. Les prélèvements doivent être référencés afin de garantir leur traçabilité.

Après les opérations de prélèvements, l'équipe de préleveurs s'assure de l'isolation du local et de sa fermeture. Des scellés sont posés en tant que de besoin.

Juste avant la sortie du local *a priori* contaminé, les préleveurs retirent leurs équipements de protection et les placent dans un sac qui sera conservé et traité par la filière d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux, en privilégiant l'incinération en cas de résultats positifs. En cas de résultats négatifs, les déchets seront éliminés par la filière des déchets ménagers. La zone de déshabillage doit être matérialisée et devra faire partie de la zone à décontaminer.

Recommandation - Pour retirer leurs EPI, les préleveurs enlèvent leur première paire de gants, surbottes et combinaison qui restent à l'intérieur du local. Puis à la sortie immédiate du local, après avoir pris les précautions d'usage, ils enlèvent le reste de leurs équipements de protection individuels à usage unique qu'ils placent avec les autres déchets dans un sac DASRI.

L'opération de prélèvements doit donner lieu à un rapport écrit mentionnant *a minima* des éléments d'identification des échantillons prélevés, la localisation et le type d'échantillons prélevés, la date, le nom des intervenants, la description des lieux et des conditions de ventilations, ainsi que toute autre information pertinente. Il peut être utile d'inclure des photographies et/ou un plan des lieux. Les méthodes d'échantillonnage devront également être décrites.

7. Références

Bioterrorisme et mesures environnementales en milieu de soins – DGS-DÉSUS – Juin 2006

Protocole de prélèvement et d'analyses de la qualité des eaux à mettre en œuvre en cas de contamination des systèmes d'alimentation en eau potable par des agents de la menace n° DGS/SD7A/06.12.2004.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.6</p>	<p style="text-align: center;">DETECTION DE CONFIRMATION</p> <p style="text-align: center;">FICHE A L'ATTENTION DES LABORATOIRES D'ANALYSES DES EAUX</p>	<p style="text-align: center;">Septembre 2010</p>
--	--	---

OBJECTIF :

CONFIRMER OU INFIRMER LA PRESENCE DE TOXINES DANS UN LOCAL, DANS UN RESEAU D'ALIMENTATION EN EAU POTABLE OU DANS DES EAUX EMBOUTEILLEES, SUR UNE CHAINE DE FABRICATION AGRO-ALIMENTAIRE.

1. Fondamentaux :

- La résistance de la toxine botulique dans l'environnement est faible ;
- A l'air libre, l'oxygène détruit les toxines et elles sont en général complètement inactivées en 12 à 48 heures. Cette inactivation est très rapide lors d'exposition à la lumière solaire ;
- Les toxines, toxine botulique et ricine, sont inactivées lors d'un chauffage à 100°C pendant 15 minutes, quel que soit le niveau de purification. Attention concernant la saxitoxine, elle n'est pas sensible à ce traitement.
- **Stratégie d'actions visant à renforcer la sécurité des installations de stockage, production et les réseaux de distribution d'eau potable.**

Cette stratégie repose sur la mise en place d'une astreinte de fonctionnement au sein du réseau national de laboratoires agréés chargés des prélèvements et des analyses de la qualité des eaux, avec un laboratoire par zone de défense.

2. Circonstances :

Suite à une revendication ou sur la base des premières données épidémiologiques, une source de contamination est suspectée :

- Il existe une forte suspicion de contamination de l'eau, en particulier en cas de revendication,
- plusieurs cas suspects (ou confirmés) de botulisme, d'intoxication à la ricine ou à une autre toxine géographiquement regroupés et sans source alimentaire commune,
- un acte de malveillance sur un réseau d'eau potable a été identifié.

Pour ce dernier cas, les laboratoires du réseau eau, spécialisés dans la détection des agents de la menace terroriste, sont chargés d'intervenir en cas d'alerte terroriste ou non, quelle que soit l'origine de la pollution accidentelle ou volontaire, afin d'effectuer les prélèvements et les analyses, en dehors des heures habituelles de fonctionnement des laboratoires du contrôle sanitaire de la qualité des eaux. Pendant les heures ouvrables, ils interviennent en complémentarité du laboratoire de proximité.

La recherche de la toxine botulique est réalisée de façon systématique avec l'application du protocole complet mis en œuvre à partir du niveau rouge de Vigipirate pour les eaux d'alimentation.

3. Intervenants :

EAU

Les laboratoires du réseau national pilote de la zone de défense concernée dont la liste est présentée en annexe.

AIR ET ALIMENTS (Pour mémoire)

En fonction de la situation, le laboratoire compétent est désigné par le préfet concerné, en concertation avec les autorités nationales.

ALIMENTS

Cf. fiche 2.9

4. Précautions préalables :

Voir l'annexe n°3 de la note du 19 février 2007.

5. Matériel nécessaire :

Tickets toxine botulique; tickets ou tests ricine
Kits enzymatiques
Pains de glace pour transport des prélèvements

6. Protocole :

EAU

Protocole de mise en évidence de la toxine

En cas de suspicion de contamination des systèmes d'alimentation en eau potable par des agents de la menace terroriste, la recherche de la toxine botulique et de la ricine est réalisée.

- Test de détection des toxines botuliques A et B par fluorimétrie *in situ*

C'est le test de référence du réseau des laboratoires Biotox-eau qui permet de donner une réponse quantitative fiable dans les plus brefs délais. Les résultats sont obtenus en 30 min pour des concentrations élevées et en 60 min pour confirmer de fortes concentrations observées ou de détecter des concentrations plus faibles. Ce test permet de détecter une concentration de 5 µg/L.

- Test de détection de la toxine botulique A par réaction enzymatique *in situ*

C'est un test à réaliser sur indication spéciale sur solution concentrée, comme un dépôt ou un surnageant présents sur les lieux d'une effraction. Le test n'est pas assez sensible pour une analyse d'eau de réseau. Le résultat qualitatif est obtenu en quelques minutes. La sensibilité de ce test correspond à des concentrations de l'ordre de 5 à 10 µg/L.

- Test de létalité sur souris par injection intrapéritonéale sur deux souris et gavage sur deux souris.

Prélèvements : 3 litres sont prélevés systématiquement en flacon verre brun pour les tests de toxicité. Les résultats sont obtenus en 24 h.

Ce test bénéficie d'une bonne sensibilité et permet de détecter une concentration de 5 µg/L.

- Test de détection de la ricine par test immunoenzymatique.

Protocole de mise en évidence de la bactérie

Prélèvements : 7 litres (pour l'ensemble des recherches microbiologiques) sont prélevés systématiquement en flacon stérile avec thiosulfate de sodium pour les analyses concernant les agents microbiologiques spécifiques.

La détection de *Clostridium botulinum* dans un prélèvement est effectuée par culture d'enrichissement (48 h en anaérobiose) suivie d'une extraction d'ADN et analyse par PCR ciblée sur les gènes codant les neurotoxines botuliques.

Les échantillons doivent être mis en culture en milieu anaérobie. Les résultats sont en général disponibles dans un délai de 7 à 10 jours avec des délais maximum possibles entre 5 et 21 jours. La production de toxine par le *Clostridium* ainsi isolé dans le milieu de culture est ensuite confirmée par le test de létalité chez la souris.

7. Références

La circulaire DGS n°524/DE n°19-03 du 7 novembre 2003 relative aux mesures à mettre en œuvre en matière de protection des systèmes d'alimentation en eau destinée à la consommation humaine, y compris les eaux conditionnées, dans le cadre de l'application du plan VIGIPIRATE.

La circulaire DGS n°2003/467/DE n°PBMP143 du 3 octobre 2003 relative aux modalités d'application des différents niveaux d'alerte nationale du plan Vigipirate aux systèmes d'alimentation en eau destinée à la consommation humaine (eau des réseaux publics et eaux conditionnées).

Les systèmes d'alimentation en eau potable. Evaluer leur vulnérabilité. Ministère de la santé et des solidarités. Mars 2007.

AFSSA, fiche de description de danger transmissible par les aliments : *Clostridium botulinum*. Disponible sur <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-Clostridiumbotu.pdf>

American Society for Microbiology, Sentinel laboratory guidelines for suspected agents of bioterrorism Botulinum Toxin, pages 1-11

CDC, Botulism in the United States 1899-1996, Handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers, 1998

GUIDE TOXINES Toxines Fiche n°5.7	DECONTAMINATION DES LIEUX DEFINITION DE LA ZONE DE CONTAMINATION	Septembre 2010
---	---	---------------------------

OBJECTIF :

DELIMITER LES ZONES CONTAMINEES ET NON-CONTAMINEES. DEFINIR LA ZONE QUI SUBIRA LES OPERATIONS DE DECONTAMINATION.

1. Circonstances

La détection préalable (fiches n°5-2 et 5-3) a confirmé la contamination des lieux par un agent biologique ou l'enquête épidémiologique a mis en évidence des cas.

2. Intervenants

- Laboratoires du réseau national « Biotox-Piratox » ;
- Prélèvements par la société prestataire de services en charge des opérations de décontamination, les analyses étant réalisées par le réseau des laboratoires « Biotox-Piratox » ;
- Si nécessaire, autre laboratoire préférentiellement accrédité et équipé pour des analyses biologiques d'air et de surface (structure de niveau P3) en cas de saturation des laboratoires du réseau « Biotox-Piratox », et disposant de préleveurs.

3. Précautions préalables

Obtenir une autorisation des autorités compétentes (en général : préfet et magistrat en charge de l'affaire) avant de commencer les opérations de décontamination des lieux.

4. Matériel nécessaire :

- Pour les intervenants : protections individuelles : pour pénétrer dans un local a priori contaminé, les personnes doivent porter au minimum :
 - un APR de type FFP3
 - des lunettes de protection
 - une double paire de gants à usage unique
 - une double paire de sur-chaussures
 - une combinaison à usage unique

❖ *Recommandation* - En cas d'incident avec exposition avérée lors de l'intervention ou de doute sur le niveau de protection des intervenants par leur équipement individuel, un traitement ad hoc est proposée par le médecin du travail.

- Pour les prélèvements⁶ : selon protocole en vigueur : prélèvements de surface et/ou d'air par biocollecteur.
 - Sacs étanches pour récupération des déchets (filiale DASRI).

5. Protocole :

Le prestataire de service chargé de la définition des zones non-contaminées et des zones à décontaminer doit :

⁶ Les prélèvements doivent être conditionnés en triple emballage spécifique classe 6.2 de l'ONU et aux instructions d'emballage 602 OACI-IATA pour le transport des matières infectieuses (arrêté ADR pour le transport sur route)

- Définir de façon large la zone à décontaminer.
Afin d'éviter au maximum de réintroduire de nouvelles personnes dans le local contaminé et ainsi limiter les risques de contamination (aérosolisation secondaire) et de dispersion, cette définition se fait à partir des plans des locaux et des circuits de ventilation et de circulation de l'air intégrant le cas échéant les étages techniques, gaines de ventilations, etc. Puis, l'inspection des locaux et les prélèvements complémentaires sont limités au minimum mais sont cependant nécessaires pour pouvoir évaluer dans un second temps l'efficacité des opérations de décontamination.
- Prendre en compte :
 - les déplacements des personnes exposées (risque de dissémination),
 - le système de ventilation (dont les gaines de ventilation), les étages techniques et la conception architecturale du site (faux plafonds...),
 - le circuit des enveloppes, colis... contenant l'agent suspect.
- Définir et lister le matériel et les objets qui pourront être décontaminés, si les méthodes disponibles le permettent, et ceux qui devront être détruits.
- Veiller à ce que tout reste dans le local
- S'assurer de l'isolation du local et de sa fermeture.

❖ *Recommandation - Juste avant la sortie du local, les opérateurs enlèvent leur 1ère paire de gants, surbottes et combinaison qui restent à l'intérieur du local. Puis à la sortie immédiate du local, après avoir pris les précautions d'usage, ils enlèvent le reste de leurs équipements de protection individuels à usage unique qu'ils placent avec les autres déchets dans un sac étanche. Ce sac sera traité par la filière d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux, en privilégiant l'incinération en cas de résultats positifs. La zone de déshabillage doit être matérialisée et fait partie de la zone à décontaminer.*

- Transférer les prélèvements⁷ réalisés vers le laboratoire en charge des analyses. Les prélèvements doivent être référencés afin de garantir leur traçabilité, au moyen du numéro unique attribué à l'événement par la Cellule Nationale de Conseil (Cellule du COGIC).
- Elaborer, sur l'opération de définition de la zone de décontamination, un rapport écrit mentionnant a minima des éléments d'identification de l'événement, la date, le nom des intervenants, la description des lieux et des conditions de ventilation, ainsi que toute autre information pertinente. Il peut être utile d'inclure des photographies et/ou un plan des lieux. Les méthodes d'échantillonnage devront également être décrites.
- La définition de la zone à décontaminer est à proposer par la société prestataire de service pour la décontamination en raison de son expérience professionnelle. La responsabilité ne doit pas reposer uniquement sur la société mais est partagée avec le laboratoire, le propriétaire et le gestionnaire de l'établissement, les autorités font une analyse globale du risque en fonction des éléments d'information dont ils disposent.

7 Les modalités d'envoi sont à définir avec le laboratoire en respectant la réglementation en vigueur relative au transport d'échantillons biologiques (arrêté du 30 juillet 2004 relatif à la mise en œuvre, l'importation, l'exportation, la détention, la cession à titre gratuit ou onéreux, l'acquisition et le transport de certains agents pathogènes responsables de maladies infectieuses, micro-organismes pathogènes et toxines).

7. Références

Article L 5139-1 et L 5139-2 du Code de la Santé Publique relatifs aux microorganismes et toxines

Arrêté du 30 juillet 2004 relatif à la mise en œuvre, l'importation, l'exportation, la détention, la cession à titre gratuit ou onéreux, l'acquisition et le transport de certains agents pathogènes responsables de maladies infectieuses, micro-organismes pathogènes et toxines

Arrêté du 1er juin 2001 modifié par l'arrêté du 5 décembre 2002 relatif au transport des matières dangereuses (arrêté ADR)

Circulaire DGS/DGUHC/DDSC n° 114 du 7 mars 2003 relative aux actions de prévention et de protection des installations de distribution de l'air dans les établissements recevant du public équipés d'une installation de ventilation avec centrales de traitement de l'air face à un risque de contamination intentionnelle ou accidentelle

CSTB, Etat des lieux des systèmes de traitement d'air et des installations de ventilation – Information destinées aux chefs d'établissements recevant du public, Janvier 2004

CSTB, Etat des lieux des systèmes de traitement d'air et des installations de ventilation – Information destinées aux opérateurs, Janvier 2004

CDC, Comprehensive procedures for collecting environmental samples for culturing Bacillus anthracis – Revised April 2002

CDC, Antimicrobial prophylaxis to prevent anthrax contamination among decontamination / Cleanup workers responding to an intentional distribution of Bacillus anthracis, www.bt.cdc.gov/agent/anthrax/exposure/cleanupprophylaxis.asp

Christopher P. Weis, PhD ; Anthony J. Intrepido, MS ; Aubrey K. Miller, MD, MPH ; Patricia G. Cowin, MS, CIH ; A Durno, BS ; Joan S. Gebhardt, PhD ; Robert Bull, PhD, Secondary aerosolization of viable Bacillus anthracis spores in a contaminated US Senate Office, JAMA. 2002 Dec 11;288(22):2853-8.

GUIDE TOXINES	DECONTAMINATION DES LIEUX	Septembre 2010
Toxines	METHODES	
Fiche n°5.8		

OBJECTIF :

PROCEDER AUX OPERATIONS TECHNIQUES DE DECONTAMINATION DES LIEUX.

1. Circonstances

La détection préalable a confirmé la contamination des lieux par un agent biologique. La zone à décontaminer a été définie (fiche n°5-7).

2. Intervenants

Société prestataire de services (les sociétés susceptibles d'intervenir sont celles procédant habituellement à des opérations de désinfection en milieu agro-alimentaire ou en milieu hospitalier par exemple).

Les services d'incendie et de secours sont susceptibles d'intervenir mais dans des cas limités (tels que par exemple dans des locaux dépendant d'un ministère) et sur demande spécifique des autorités compétentes.

3. Précautions préalables

- Obtenir une autorisation des autorités compétentes (en général : préfet et magistrat en charge de l'affaire) avant de commencer la décontamination des lieux
- Déterminer la zone à décontaminer (cf. fiche n°5-8) et attendre au moins une demi-journée avant de procéder à la décontamination afin de favoriser la sédimentation de la poudre ou de l'aérosol
- Définir et lister le matériel et objets qui devront être détruits et ceux qui pourront être décontaminés, si les méthodes disponibles le permettent
- Tout doit rester dans le local

4. Matériel nécessaire

- Pour les intervenants : protections individuelles : pour pénétrer dans un local a priori contaminé, les personnes doivent porter au minimum :
 - APR adapté aux produits utilisés lors des opérations de décontamination (gaz...) et aux agents biologiques en cause
 - des lunettes de protection
 - une double paire de gants à usage unique
 - une double paire de sur-chaussures
 - une combinaison à usage unique.

❖ *Recommandation - En cas d'incident avec exposition avérée lors de l'intervention ou de doute sur le niveau de protection des intervenants par leur équipement individuel, un traitement ad hoc est proposé par le médecin du travail.*

- Décontamination : types de produits (liste non exhaustive) : formol (formaldéhyde), glutaraldéhyde, eau de Javel, acide peracétique et peroxyde d'hydrogène, dioxyde de chlore, bromure de méthyle...
Nota bene : les produits cités sont soumis à la réglementation européenne « biocides ». Cette liste est donc susceptible d'évoluer.
- Matériel utilisable (liste non exhaustive) : lingettes imprégnées, diffuseurs, matériel de dispersion par voie aérienne, décontaminateur bactériologique par ultraviolets (uniquement pour la décontamination de l'air), filtration sur filtre HEPA...

- Témoins de décontamination (témoins biologiques et/ ou bandelettes)
- Sacs étanches pour récupération des déchets (filière DASRI) et l'emballage du matériel qui sera décontaminé à l'extérieur (par irradiation par exemple).

5. Protocole :

Le prestataire de services chargé de la décontamination doit préalablement :

- Identifier, si possible sur plan, les voies de migration des produits de décontamination utilisés du local à décontaminer vers d'autres locaux. Cette évaluation servira à déterminer le volume concerné et la quantité de produit à utiliser. Par sécurité, cette dernière doit être majorée. Elle devra tenir compte notamment de l'état de propreté du local (présence de matière susceptible de consommer les produits de décontamination et donc d'en diminuer l'efficacité).
- Procéder le cas échéant à une « étanchéification » du local à traiter (fenêtre, portes, bouches d'aération, passage de gaines et tuyaux...), tout en supprimant ce qui pourrait nuire à la diffusion des produits dans l'ensemble de la (des) zone(s) à décontaminer.
- Fournir des informations précises au responsable de l'établissement sur les difficultés et les risques éventuels ainsi que sur les consignes de sécurité à respecter pendant la durée du traitement et à l'issue du traitement avant la réoccupation des locaux. Ces informations porteront notamment sur les signes d'une intoxication et sur les mesures à prendre.
- Apposer sur la porte du local une affiche interdisant l'accès pendant les opérations de décontamination et de neutralisation ou aération (la neutralisation n'est pas une étape systématique, dans la pratique, une aération adéquate suffit en général.).
- Déterminer le procédé requis en fonction de la configuration des lieux (cf. ci-dessous les principaux procédés existants à ce jour).
 - ❖ *Remarque - Dans le cas exceptionnel où le microorganisme/la toxine présent dans les lieux à décontaminer n'aurait pu être identifié, les procédés de décontamination (temps, dose) seront dimensionnés sur le Bacillus anthracis. La décontamination doit être réalisée avec un produit sporicide homologué (norme NF T 72-231 et/ou NF T 72-190).*
- Réaliser le traitement avec les procédés requis.
 - ❖ *Remarque - La décontamination par voie aérienne avec produit sporicide s'impose ; dans le cas où elle s'avère impossible (volumes...), une décontamination par aspersion est possible à basse pression, celle-ci s'effectuera généralement avec un produit à base d'eau de Javel ou d'acide peracétique.*
 - ❖ *Remarque - La décontamination par voie aérienne peut être combinée à d'autres méthodes pour en améliorer l'efficacité. A titre d'exemple, dans le cas où un dépôt du produit suspect (poudre ou liquide) est visible, une désinfection limitée de surface ou d'objet peut être réalisée préalablement. Il s'agit d'une décontamination de première intention : le désinfectant liquide sporicide est appliqué par contact avec un support (type papier absorbant) en bordure des surfaces qui ont été exposées à la poudre, puis est étalé sur les zones exposées (action de frottement) en partant de la périphérie vers le centre. Le support d'application du désinfectant est placé dans un sac étanche. Une deuxième application est effectuée en utilisant un autre support. Le désinfectant utilisé peut être de l'eau de Javel à 2,6% de chlore actif avec un temps de contact de 30 minutes.*

- Porter une attention particulière aux systèmes de ventilation et de traitement de l'air existant pour le choix des techniques à utiliser. Il faut tenir compte notamment de leur état d'entretien (problématique de la diffusion et de la consommation des produits dans les gaines souvent mal entretenues).
 - ❖ *Remarque - A titre d'exemple, les gaines de ventilation peuvent faire l'objet d'un premier traitement, puis d'un nettoyage avant un second traitement. Les opérations peuvent également être réalisées en alternant une phase de traitement avec le système de ventilation à l'arrêt puis le système en fonctionnement.*
- Mettre en œuvre les éventuels procédés de neutralisation des gaz et/ou l'aération nécessaire avant réoccupation des locaux.
- Emballer les objets et matériels ne pouvant pas être décontaminés de façon satisfaisante par les méthodes retenues, avant l'opération de décontamination, afin de garantir qu'ils ne seront pas à l'origine d'une recontamination des lieux lors de l'enlèvement et afin de décontaminer l'emballage avant de les sortir du local. Un double emballage est nécessaire avant transport. Si la décontamination à l'extérieur (par irradiation par exemple) n'est pas possible, les objets et matériels devront être incinérés.
- Utiliser des kits ou bandelettes témoins de décontamination dans le local (à répartir dans des zones représentatives du local⁸) ; ils doivent permettre de relancer l'opération de décontamination ou de la combiner avec une autre méthode si les résultats ne sont pas satisfaisants. Les résultats obtenus ne permettent en aucun cas la réouverture du local. Des prélèvements complémentaires devront être réalisés (fiche n°5-5).
- Assurer le conditionnement des déchets (dont Equipements de Protection Individuelle) et leur transport vers les filières DASRI.

Principaux moyens de décontamination susceptibles d'être utilisés, avec effet sporicide

Les moyens de désinfection peuvent être présentés en deux grands groupes :

- La désinfection dite HPH : Hors Présence Humaine.
Cette méthode est utilisable uniquement dans les espaces clos et/ou facilement étanchéifiants (par calfeutrage en particulier).
- La désinfection dite EPH : En Présence Humaine (c'est-à-dire en présence d'intervenants avec EPI).
Elle sera retenue en particulier pour les locaux dans les lieux « ouverts » (stades par exemple) ou semi-ouverts (gares par exemple).

1) La désinfection HPH (avec disperseurs non dirigés, le confinement de la zone est impératif)

- **Par voie gazeuse :**

Le formaldéhyde (ou formol) est actuellement le produit le plus utilisé (par exemple en laboratoire P4 selon une recommandation de l'OMS) : il se présente sous forme liquide (à 30%) ou sous forme solide (paraformaldéhyde), est chauffé puis diffusé sous forme de gaz.

La concentration à utiliser dépend de l'hygrométrie et de la température des lieux à décontaminer (en général, le formol n'est utilisable que dans des locaux où l'hygrométrie est de l'ordre de 70% d'Humidité Relative avec une température de 20°C environ).

Une phase d'aération ou de neutralisation après intervention est nécessaire.

⁸ Peuvent être considérées comme représentatives les zones les plus contaminées (selon résultats d'analyse) et les zones les plus difficilement accessibles aux produits de décontamination.

Les autres gaz utilisables sont notamment l'ozone, l'acide peracétique et le peroxyde d'hydrogène, le bromure de méthyle.

- **Par aérosol liquide :**

Les produits utilisés sont le plus souvent des mélanges diffusés sous forme de micro-gouttelettes. Les plus courants sont à base de formol ; si le mélange contient plus de 3% de formol, il doit être utilisé par un procédé agréé. L'agrément n'est plus nécessaire en dessous d'une teneur de 3% de formol.

Nota :

- Cet agrément du couple appareil-produit est amené à disparaître en raison de l'évolution de la réglementation européenne sur les biocides :

Les produits seront agréés de manière spécifique selon la réglementation européenne ;

L'agrément des procédés de désinfection est octroyé par des organismes dont la liste est établie par décision de l'AFSSAPS (ordonnance n°2005-1087 du 1^{er} septembre 2005).

- Des produits à base de glutaraldéhyde ou d'acide peracétique peuvent également être utilisés.

- **Par fumigènes :**

La fumigation est un procédé dérivé de la pyrotechnie. La combustion (incomplète) maîtrisée d'un mélange de réactifs conduit à l'émission de fumées qui ont la propriété de pouvoir véhiculer le produit de désinfection (en général produits du type formol ou glutaraldéhyde sous forme de poudre).

(Exemple d'application : toute pièce pouvant être calfeutrée, hottes de laboratoires).

2) La désinfection EPH (locaux ouverts en particulier ou non étanchéifiées) ;

En Présence Humaine, des disperseurs dirigés sont utilisés.

Tout type de produit sporicide (homologué par NF T 72-231 et/ou NF T 72-190) peut être utilisé et par exemple l'eau de Javel (2,6% de chlore actif, temps de contact au moins 30 min), peroxyde d'hydrogène et acide peracétique... Pour tous les produits liquides utilisés sous forme de spray il faut conseiller un temps de contact d'au moins 30 minutes mais 60 minutes sont préférables.

❖ Remarque - Certains plastiques, l'inox ou les revêtements type moquettes peuvent être dénaturés sous l'action de l'eau de Javel.

❖ Remarque relative à l'utilisation du formaldéhyde : ce produit est actuellement l'un des plus utilisés dans les procédés de désinfection en raison de son efficacité reconnue et car ces dernières années il n'y avait pas d'autres alternatives pour la destruction des spores (son efficacité est néanmoins discutable en fonction des conditions environnementales). Des travaux sont actuellement en cours afin de déterminer si ce composé possède des propriétés cancérigènes susceptibles d'entraîner la révision de son classement (de classe 3 en classe 1, cancérigène pour l'homme) selon la classification du Centre International de Recherche sur le Cancer de l'OMS.

D'autres matériels peuvent être utilisés sous réserve de leur efficacité en fonction de l'agent identifié tels que par exemple des décontamineurs biologiques, déjà utilisés en milieu médical. Ces appareils, à l'aide d'un moteur-ventilateur, assurent le passage de l'air ambiant dans un filtre qui capte les micro-organismes et est irradié par des rayons UV. Ces appareils sont réservés à la décontamination de l'air.

6. Références

Ordonnance n°2005-1087 du 1er septembre 2005

Décret n° 2001-881 du 25 septembre 2001 portant application de l'article L 214-1 du code de la consommation en ce qui concerne les préparations, les concentrés et les eaux de Javel.

Circulaire DGS/DGUHC/DDSC n° 114 du 7 mars 2003 relative aux actions de prévention et de protection des installations de distribution de l'air dans les établissements recevant du public équipés d'une installation de ventilation avec centrales de traitement de l'air face à un risque de contamination de intentionnelle ou accidentelle.

UNIR, Désinfection des surfaces par voie aérienne en industrie alimentaire, 1998.

Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, Tome 155, Supplément au n°2 consacré à « hygiène et désinfection », année 2002.

Ellen A. Spotts Whitney et al., Inactivation of *Bacillus anthracis* Spores, *Emerging Infectious Diseases*, Vol 9, n°6, Juin 2003.

L.M Weim and al, HEPA/Vaccine plan for indoor anthrax remediation, *Emerging infectious diseases* vol 11.1, 2005.

US-EPA, Pesticides : Topical and chemical Facts Sheets, 2003 : <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemicals>

US-EPA, Anthrax, <http://www.epa.gov/epahome/hi-anthrax.htm>

Procédure DGS de décontamination des locaux potentiellement contaminés – 25 octobre 2001.

CSTB, Etat des lieux des systèmes de traitement d'air et des installations de ventilation – Information destinées aux chefs d'établissements recevant du public, Janvier 2004.

CSTB, Etat des lieux des systèmes de traitement d'air et des installations de ventilation – Information destinées aux opérateurs, Janvier 2004.

CDC, Antimicrobial prophylaxis to prevent anthrax contamination among decontamination / Cleanup workers responding to an intentional distribution of *Bacillus anthracis*, www.bt.cdc.gov/agent/anthrax/exposure/cleanupprophylaxis.asp.

Buttner et al., Determination of the Efficacy of Two Building Decontamination Strategies by Surface Sampling with Culture and Quantitative PCR Analysis, *Appl. Environ. Microbiol.* 2004;70:4740-4747.

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.9</p>	<p style="text-align: center;">DECONTAMINATION DES LIEUX</p> <p style="text-align: center;">REOUVERTURE D'UN LIEU APRES DECONTAMINATION</p>	<p style="text-align: center;">Septembre 2010</p>
--	---	--

OBJECTIF

CONTROLLER L'EFFICACITE DE LA DECONTAMINATION AFIN DE PERMETTRE LA REINTEGRATION DES LIEUX / RESTAURATION DU LOCAL A SON USAGE INITIAL.

1. Circonstances

Après opérations de décontamination.

2. Intervenants

- Laboratoires du réseau national « Biotox-Piratox »
- Autre laboratoire préférentiellement accrédité et équipé pour des analyses biologiques d'air et de surface (structure de niveau P3) en cas de saturation des laboratoires du réseau Biotox-Piratox, et disposant de préleveurs. Il est recommandé de travailler si possible avec les mêmes préleveurs et le même laboratoire que pour la définition de la zone contaminée (un cahier des charges devra être établi).
Il est à noter que la réintégration des lieux sera soumise à l'accord des autorités compétentes (en général le préfet et le magistrat en charge de l'affaire).

3. Précautions préalables

Obtenir auprès de la société prestataire de service pour la décontamination un bilan d'intervention indiquant les procédures mises en œuvre et les résultats des kits témoins de contamination.

Demander le renouvellement de l'opération (éventuellement en combinant la première opération avec une seconde méthode) si les résultats des kits ou bandelettes sont défavorables ou si le contrôle de désinfection est non satisfaisant.

4. Matériel nécessaire

- Prélèvements : moyens de prélèvements susceptibles de prélever de très faibles quantités de micro-organismes en étant le plus exhaustif possible (par exemple biocollecteur à haut débit)
 - ❖ *Remarque - Afin de pouvoir réaliser une culture, les moyens de prélèvements utilisés ne doivent pas être destructeurs.*
- Méthodes analytiques : les techniques de détection utilisées doivent être sensibles aux faibles concentrations et différencier les micro-organismes toujours présents mais tués de ceux encore vivant, la PCR ne peut donc être utilisée seule (PCR + culture nécessaire, des tests d'immuno-détection peuvent également être réalisés de façon complémentaire)

5. Protocole

- Réaliser au moins 2 séries de prélèvements : une après l'intervention (dès réception du rapport d'intervention du prestataire), la suivante au moins 5 jours après pour confirmation (en fonction du temps nécessaire pour obtenir les résultats d'analyse du premier prélèvement).

- Définir la stratégie d'échantillonnage en fonction des résultats obtenus lors de la définition de la zone à décontaminer. Leur nombre dépend des caractéristiques des locaux (prendre en compte notamment les gaines de ventilation, la présence d'éventuelles niches écologiques). Il est nécessaire de réaliser des prélèvements de surface (écouvillons + gélose contact) et des prélèvements d'air. Les échantillons d'air doivent avoir une taille statistiquement représentative du lieu concerné (c'est-à-dire au moins une fois le volume du local).
- Interprétation des résultats, conditions de réouverture : la réouverture des locaux doit être basée sur une analyse de la situation locale incluant le type de local concerné, l'ensemble des résultats d'analyse obtenus avant et après opérations de décontamination et l'analyse critique des lieux de prélèvements et des méthodes d'analyse retenus pour évaluer l'efficacité de la décontamination. En l'absence de données scientifiques suffisantes actuellement, il peut être recommandé d'obtenir un résultat ne mettant en évidence aucune spore ou bactérie détectable par m² (surfaces) et m³ (air) sur au moins 2 prélèvements espacés de 5 jours au minimum.
- L'opération de prélèvement doit donner lieu à un rapport écrit mentionnant a minima des éléments d'identification des échantillons prélevés, la localisation et le type d'échantillons prélevés, la date, le nom des intervenants, la description des lieux et des conditions de ventilations, ainsi que toute autre information pertinente. Il peut être utile d'inclure des photographies et/ou un plan des lieux. Les méthodes d'échantillonnage devront également être décrites.

6. Références

Circulaire n°750/SGDN/PSE/... du 7 février 2003

CDC, Comprehensive procedures for collecting environmental samples for culturing *Bacillus anthracis* – Revised April 2002

Kevin P. Fennely, Amy L. Davidow, Shelly L. Miller, Nancy Connell, and Jerrold J. Ellner, Airborne infection with *Bacillus anthracis* – from Mills to Mail, *Emerging Infectious Diseases*, vol. 10, n°6, June 2004. www.cdc.gov/eid

Buttner et al., Determination of the Efficacy of Two Building Decontamination Strategies by Surface Sampling with Culture and Quantitative PCR Analysis, *Appl. Environ. Microbiol.* 2004;70:4740-4747.

Peters CJ, Hartley DM, Anthrax inhalation and lethal human infection, *Lancet*, 2002, 359 :710-1

« Les risques NRBC savoir pour agir » ; éd. Montauban ; 2004

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.10</p>	<p>DECONTAMINATION</p> <p>TRAITEMENT DES EFFETS PERSONNELS</p>	<p>Septembre</p> <p>2010</p>
---	--	--

OBJECTIF

DECONTAMINER LES EFFETS PERSONNELS DES PERSONNES PRISES EN CHARGE DANS UNE CHAÎNE DE DECONTAMINATION.

1. Circonstances :

Les effets personnels des personnes exposées ayant été prises en charge dans une structure de décontamination sont regroupés dans des sacs hermétiques dans l'attente de la levée de doute et restent dans la zone contaminée jusqu'à l'obtention des résultats.

Il convient de distinguer les objets pouvant être rendus rapidement et pouvant être indispensables aux personnes exposées (clés, papiers d'identité, etc.) des objets pouvant être stockés provisoirement dans l'attente d'une décontamination spécifique, qui pourrait s'avérer plus complexe. Il est prévisible que certains objets ne pourront pas être décontaminés et devront être incinérés si les résultats d'analyses font état d'une contamination par un agent pathogène.

Une décontamination de certains objets personnels, indispensables aux personnes exposées (clés en particulier), sera envisagée quand cette opération ne ralentit pas le débit dans les structures de décontamination des personnes.

2. Intervenants

- Personnels présents au niveau des structures de décontamination (pompiers...)
- Sociétés spécialisées dans le domaine de la décontamination.

Précautions préalables :

Les objets non décontaminables immédiatement et sur place doivent être placés dans un sac hermétique et identifiés pour chaque individu. Les personnes seront prévenues, qu'en fonction des résultats d'analyse, un certain nombre de ces objets pourront ne pas leur être rendus s'ils représentent un risque de contamination.

3. Matériel nécessaire

Selon les objets : bain d'une solution décontaminante (eau de Javel ou autres produits liquides sporicides...), autoclave (chaleur ou oxyde d'éthylène), irradiateur, etc...

4. Protocole

On différencie trois cas selon le type d'objets pris en compte :

Type 1 : objets indispensables aux personnes exposées et pouvant être immergés dans un liquide sans détérioration. Exemples : clés, papiers d'identité « lavables » et éventuellement montres étanches, bijoux (avec ou sans pierre précieuse)...

Ces objets sont décontaminés en même temps que les personnes par trempage (eau de Javel à 0,5 % de chlore actif pendant 15 minutes) pour les objets type clés ou montres étanches, ou par essuyage à l'aide de lingettes imprégnées, sous réserve de s'assurer que le produit imprégnant les lingettes a une activité sporicide.

Type 2 : objets pour lesquels des méthodes de décontamination existent mais doivent être réalisées à l'extérieur ou objets non indispensables à la personne exposée. Exemples : montres, bijoux, sacs à mains, lunettes, papiers d'identité « non lavables »...

En fonction des résultats analytiques de confirmation de la présence d'un agent biologique :

- si analyses négatives, les "personnes exposées" récupèrent leurs affaires.
- si résultats positifs : décontamination de l'extérieur ou doublement de l'emballage (pour transport) des sacs contenant les affaires puis transfert des sacs vers une société spécialisée dans la stérilisation par irradiation ou autre technique adaptée.

Concernant l'irradiation, les doses requises pour l'agent du charbon (l'agent le plus pénalisant pris comme référence en l'absence de confirmation de l'agent biologique utilisé) correspondent à un minimum de 50 Kgy, l'irradiation par rayonnement gamma est préférable.

L'irradiation est adaptée pour les vêtements, le papier, les bijoux (hors pierres précieuses car risque d'opacification). Ce procédé n'est a priori pas adapté pour les téléphones portables et les matériels électroniques.

Type 3 : objets pour lesquels il n'existe pas de méthode de décontamination. Exemples : téléphones portables, parapluies, walkmans...

En fonction des résultats analytiques de confirmation de la présence d'un agent biologique :

- si analyses négatives, les "personnes exposées" récupèrent leurs affaires.
- si résultats positifs : décontamination de l'extérieur des sacs ou doublement de l'emballage (pour transport) des sacs contenant les affaires puis transfert des sacs vers une unité de destruction des déchets par incinération.

❖ Remarque - Des solutions décontaminantes alternatives non destructives pour les matériaux (applicables aux 3 types d'effets personnels) sont en cours de développement (plasma froid, enzymes...) et seront opérationnelles d'ici 3 à 5 ans.

❖ Remarque - Les animaux domestiques exposés doivent être isolés (conditions de séquestration définies par la Direction Départementale des Services Vétérinaires).

<p>GUIDE TOXINES</p> <p>Toxines</p> <p>Fiche n°5.11</p>	<p>DECONTAMINATION DES RESEAUX D'EAU</p> <p>METHODES</p>	<p>Septembre</p> <p>2010</p>
---	--	--

OBJECTIF :

PROCEDER AUX OPERATIONS TECHNIQUES DE DECONTAMINATION DES RESEAUX D'EAU.

1. Circonstances

La détection préalable a confirmé la contamination d'un réseau par une toxine

2. Intervenants :

Exploitants du réseau.

3. Protocole :

Chloration : L'inactivation d'une toxine exige des taux de traitement proches de ceux mis en œuvre dans le cadre de traitements chocs (taux supérieurs à 40 mg/l). En pratique, ces taux ne peuvent être envisagés que dans le cadre d'opérations de désinfection choc. Une eau traitée à de tels niveaux ne peut être distribuée au consommateur, ce qui signifie qu'en cas de traitement à ce niveau de chloration, un réseau doit être purgé avant remise en service.

Température : Si contamination d'un réseau, faire bouillir l'eau pendant au moins 15 minutes avant consommation permettrait de limiter les risques (attention non valable pour la saxitoxine).

Nanofiltration : Bonne efficacité pour la toxine botulique et la ricine. Retient partiellement la saxitoxine.

4. Référence

Rapport Institut Pasteur de Lille – Veolia Environnement – Suez Environnement « Etude du comportement des agents de la menace terroriste en milieu hydrique et évaluation de l'efficacité des procédés actuels de traitement utilisés dans les filières de production-traitement de l'eau destinée à la consommation humaine ainsi que l'efficacité d'autres méthodes, visant à inactiver les agents de la menace terroriste ». Mars 2007

ANNEXES

Annexe 1 : liste des laboratoires Biotox-Eau

Annexe 2 : fiche pratique – « eau de javel »

Annexe 3 : Algorithme pratique pour la priorisation des sites à décontaminer

Annexes 4 à 7 : Guide d'investigation épidémiologique de l'institut de veille sanitaire

- **Botulisme**
- **Ricine**
- **Saxitoxine**
- **Entérotoxine B Staphylococcique**

Annexe 8 : Etat d'avancement des recherches de thérapies contre une intoxication à la ricine.

Annexe 1

LES LABORATOIRES DU RESEAU BIOTOX-EAU

En dehors des heures d'ouvertures et en cas d'urgence, il est possible de contacter les personnes d'astreintes via les ARS de zones.

I - Zone de défense NORD:

IPL Santé, Environnement Durables Nord
1, rue du Professeur Calmette
59046 LILLE Cedex
Tél.: 03.20.87.77.30 Fax: 03.20.87.73.83

II - Zone de défense SUD-OUEST:

IPL Santé, Environnement Durables Atlantique
1, rue du Professeur Vèzes
33300 BORDEAUX
Tél.: 05.56.01.84.00 Fax: 05.57.87.11.63

III - Zone de défense SUD-EST:

CARSO - Laboratoire Santé Environnement Hygiène de Lyon (CARSO-LSEHL)
321, avenue Jean Jaurès
69362 LYON Cedex 07
Tél.: 04.72.76.16.16 Fax: 04.72.76.16.76

IV - Zone de défense OUEST:

Laboratoire d'Étude et de Recherche en Environnement et Santé de Rennes (LERES)
École des Hautes Études en Santé Publique (EHESP)
Avenue du Professeur Léon Bernard
CS 74312
35043 RENNES Cedex
Tél.: 02.99.02.29.22 Fax: 02.99.02.29.29

V - Zone de défense de PARIS:

Eau de Paris
9, rue Schoelcher
75675 PARIS Cedex 14
Tél.: 01.40.84.78.78 du lundi au samedi pendant les heures ouvrables
01.40.84.77.77 du lundi au samedi en dehors des heures ouvrables et les dimanches et jours
fériés toute la journée
Fax: 01.40.84.77.66

VI - Zone de défense EST:

Laboratoire d'Hydrologie de Nancy – Agence Nationale de Sécurité Sanitaire des Aliments, de
l'Environnement et du Travail (LHN-ANSES)
Laboratoire en charge de la coordination technique du réseau depuis 2005
40, rue Lionnois
54000 NANCY
Tél.: 03.83.38.87.22 Fax: 03.83.38.87.21

VII - Zone de défense SUD:

IPL - Santé, environnement durables Méditerranée
Parc Euromédecine, 778, rue de la Croix Verte
34196 MONTPELLIER Cedex 5
Tél.: 04.67.84.74.00 Fax: 04.67.04.17.67

VIII – Zone de défense ANTILLES (Guadeloupe et la Martinique):

Laboratoire d'Hygiène de l'Environnement
Institut Pasteur de Guadeloupe
Morne Jolivère - BP 484
97183 LES ABYMES Cedex
GUADELOUPE
Tél.: 05.90.89.69.40 Fax: 05.90.89.69.47

IX – Zone de défense GUYANE:

Laboratoire Hygiène et Environnement
Institut Pasteur de la Guyane
BP 6010
97306 CAYENNE
GUYANE
Tél.: 05.94.29.26.10 Fax: 05.94.30.56.81

PARTIE 1 : CONSEILS GENERAUX

Caractéristiques

Les eaux et extraits de Javel sont des solutions aqueuses d'hypochlorite de sodium généralement obtenues en faisant réagir le chlore sur la soude caustique.

Reconnue pour ses propriétés détachante, blanchissante, désinfectante et désodorisante, l'eau de Javel est largement utilisée pour la désinfection des locaux, du matériel, pour le traitement des eaux, les usages ménagers, le blanchiment des fibres textiles, etc.

L'eau de Javel, en fonction de son pourcentage en chlore actif, peut être bactéricide (normes EN 1040 et 1276, NF T 72-190), fongicide (normes EN 1275 et 1650), sporicide (norme NF T 72-231), virucide (norme NF T 72-180).

Présentation / Conservation

L'eau de Javel se présente, pour le grand public¹, sous les formes suivantes :

- **en flacon à 2,6 % de chlore actif²** - eau de Javel prête à l'emploi : elle se conserve moins d'un an (eau de Javel à 9°chlorométriques)
- **en doses-recharges à 9,6 % de chlore actif** (dites berlingots) : les doses-recharges sont à diluer dès que possible, en tous cas dans les 3 mois qui suivent la date de fabrication par quinzaine sur l'emballage et à utiliser dans le mois qui suit la dilution. (extrait d'eau de Javel à 36°chlorométriques)
- **les doses effervescentes** (sel de sodium de l'acide dichloroisocyanurique dihydraté : DCCNa) sont de plus en plus répandues ; 1 gramme de DCCNa libère 0,3 g de chlore actif. Il convient de se reporter aux consignes sur l'emballage pour en déterminer la concentration et les conditions d'usage. Les tablettes destinées à un usage en tant que désinfectant sont souvent dosées à des concentrations de 1,67 g de NaDCC ou 8,68 g de NaDCC par comprimé.

Remarque : le DCCNa est stable et peut être transporté et stocké facilement

Conditions d'utilisation

Quelle que soit sa présentation, l'eau de Javel, sous forme liquide, doit être stockée à l'abri de la lumière et de la chaleur.

Les solutions d'eau de Javel peuvent être irritantes pour la peau, les muqueuses et les voies respiratoires. Il faut porter des lunettes et des gants pour manipuler les solutions concentrées. Les préparations doivent être réalisées dans un local aéré.

L'eau de Javel doit être diluée avec de l'eau froide dans des récipients propres et identifiés (concentration + date de préparation).

Elle doit toujours être utilisée seule : ne pas la mélanger avec un autre produit car d'une part une réaction chimique entre les produits pourrait diminuer son efficacité, d'autre part et en particulier dans le cas d'un mélange avec un produit acide, le dégagement d'un gaz toxique pourrait se produire.

¹ On trouve sur le marché des produits à des concentrations plus élevées : hypochlorite de sodium à 13% ou à 25% de chlore actif mais ils sont réservés uniquement à l'usage industriel. Il existe également de l'hypochlorite de calcium à 70% de chlore actif sous forme de poudre

² La concentration des eaux et extraits de Javel a longtemps été exprimée dans les pays francophones, par le degré chlorométrique et, dans les autres pays, par la teneur en chlore actif. Depuis 2001, la concentration des eaux et des extraits de Javel est également indiquée en France en pourcentage pondéral de chlore actif (% c.a.).

Propriétés désinfectantes

L'activité désinfectante de l'eau de Javel est principalement due à l'acide hypochloreux. L'eau de Javel à pH **légèrement** acide à neutre (5 à 7) est généralement 100 fois plus efficace qu'à pH alcalin où l'ion hypochlorite devient majoritaire. Les solutions préparées à partir de comprimés solubles de DCCNa (dont le pH est proche de la neutralité) sont plus efficaces à pourcentage de chlore équivalent que les solutions de Javel à base d'hypochlorite de sodium.

Remarque : A contrario, la décontamination des composés du **risque chimique** sera plus efficace avec les solutions à base d'hypochlorite de sodium qui agissent en combinant le pouvoir alcalin et oxydant.

PARTIE 2 : ELEMENTS TECHNIQUES COMPLEMENTAIRES .

Définition du titre d'une eau de Javel

Le degré chlorométrique (°Chl) donne le pouvoir oxydant d'un litre d'eau de Javel à 20 °C. Il est exprimé en dichlore gazeux sous 1 bar et à 0°C, mais ne figure plus sur les emballages commerciaux.

Le pourcentage de chlore actif représente la masse de dichlore formée à partir de 100 g de produit. Le % de chlore actif peut varier pour une eau de Javel de même degré chlorométrique si les produits de base ont des densités différentes.

Pour exemple :

- Eau de Javel à 2,6% contient de 26,73 g/L à 26,96 g/L de chlore actif (en fonction de la préparation) (# 8,5°chl.)
- Eau de Javel à 0,5% contient 5,03 g/L de chlore actif (#1,59°chl.)

Pour mémoire : 1 ppm = 1 partie par million (ex : 1mg pour 1000 000 mg soit 1mg/kg)

Exemple eau de Javel à 0,5% = 5000 ppm

Recensement des principaux usages utiles dans le cadre de BIOTOX

Les pourcentages de chlore actif et temps de contacts préconisés, sont ceux efficaces sur le *Bacillus anthracis*. Ils ont été sur-évalués par rapport aux valeurs d'efficacité retrouvées au laboratoire, pour pallier les éventuelles interférences dues à l'encrassement naturel et aux états de surface des matériaux à décontaminer.

- Prise en charge des personnes exposées présentant des plaies : La décontamination des plaies est un acte médical qui doit être effectué par une personne formée à ce soin. L'antiseptique cutané recommandé³ pour la décontamination des plaies dans le contexte bio-terroriste est le liquide de Dakin, c'est un dérivé chloré (hypochlorite de sodium...) à 0,5% de chlore actif (soit 1,6 degré chlorométrique). Il peut être préparé en diluant au 1/5 de l'eau de Javel à 2,6% de chlore actif (préparation commerciale en flacons) – temps de contact : au moins 5 minutes.
- Décontamination des locaux :
Décontamination par aspersion avec disperseurs dirigés en réalisant un film uniforme sur la surface et sans faire ruisseler : eau de Javel à 2,6 % de chlore actif. Le temps de contact sera d'au moins 30 minutes ou temps de séchage spontané.
- Décontamination d'une surface limitée (ex : dépôt visible de poudre ou de liquide) : eau de Javel à 2,6 % chlore actif appliquée directement sur le dépôt puis recouvrir d'un support (type papier absorbant) – temps de contact d'au moins 30 minutes ou temps de séchage spontané.

³ Les antiseptiques iodés utilisés classiquement sont inactifs sur les spores de *Bacillus anthracis*.

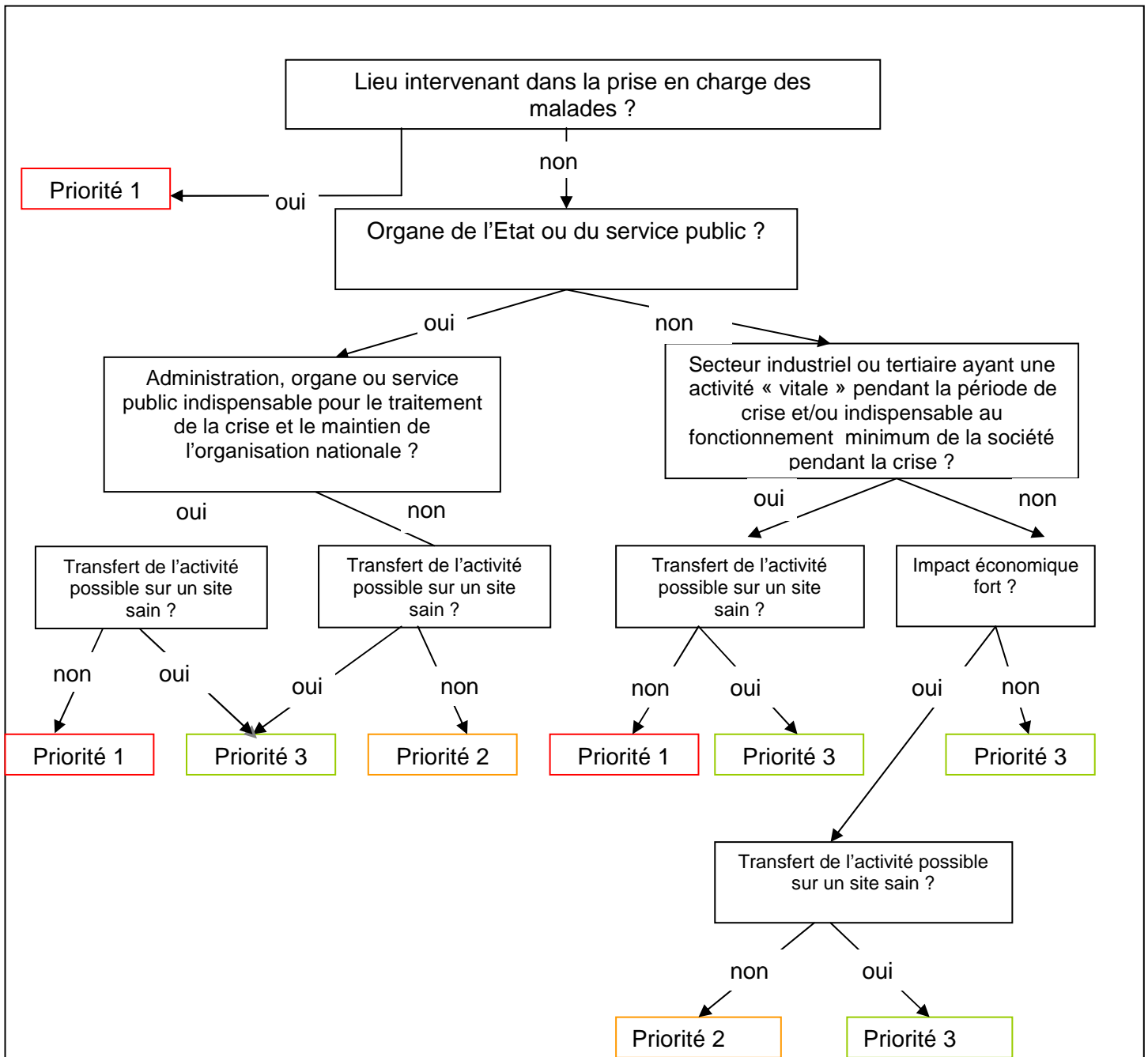
- Petit matériel, effets personnels (clés, montres étanches...) : trempage dans un bain d'eau de Javel à 0,5 % de c.a. obtenu par dilution au 1/5 de l'eau de Javel à 2,6% de chlore actif (préparation commerciale en flacons) – temps de contact 15 minutes.
- Douches, canalisations, siphons : verser ½ litre d'eau de Javel à 2,6% de chlore actif – temps de contact minimum 15 minutes - puis rincer.
- Domicile (mur et sol salle de bain...) : utiliser les préparations d'eau de Javel du commerce en suivant les recommandations prescrites sur les emballages.
- Traitement déchets liquides : lorsque les déchets liquides peuvent être récupérés dans des récipients étanches ou des bonbonnes, ils sont désinfectés par l'ajout d'eau de Javel : 1 dose-recharge (ou berlingot) à 9,6 % de chlore actif pour 20 litres – temps de contact 30 à 60 minutes avant rejet dans le réseau d'évacuation des eaux usées.

Important à retenir :

- Dès qu'elle est préparée une solution d'eau de Javel perd du titre :
 - toujours vérifier la date de péremption sur les préparations commerciales,
 - utiliser immédiatement les préparations diluées.
 - Utiliser de l'eau de Javel titrant à au moins 0,5% de chlore actif.
- Le chlore actif contenu dans les solutions d'eau de Javel est consommé par la matière organique : en cas d'utilisation sur des surfaces sales, il convient de surestimer les doses ou de procéder à un nettoyage préalable.
- Les solutions concentrées peuvent avoir des effets toxiques et doivent donc être manipulées avec précaution.

Références :

- Décret n°2001-881 du 25 septembre 2001 portant application de l'article L. 214-1 du Code de la Consommation en ce qui concerne les préparations, les concentrés et les eaux de Javel.
- Fiches de la Chambre Syndicale Nationale de l'Eau de Javel (fiches de présentation et recommandations – septembre 2001)
- INRS, fiche toxicologique n°157 –Edition 2004
- Chlore, 1g (NaDCC / dichloroisocyan. Sodium 1,67 g), comp. DDISNADC1T-, Catalogue médical MSF 2005, http://www.msf.org/source/refbooks/msf_docs/fr/Catalog/D/DIS/DDISNADC1T-.pdf
- Douet F., Guezet S., Lefflot S., Lesteven C., Poignant J., L'eau de Javel et ses usages (<http://www.rhbn.org/documents/groupe/javel/tel/javel.pdf>)
Buisson Y., Cavallo J.D., Kowalski J.J., Renaudeau C., Tréguier J.Y., Les risques NRBC savoir pour agir, Editions Xavier Montauban, 2004



Remarque - Le nombre de personnes exposées ainsi que la présence ou non d'un laboratoire mobile peuvent également être pris en compte.

Illustration non exhaustive des priorités – A titre d'exemple :

- **Priorité 1** : établissements de santé, zone/chaîne de décontamination des cas, laboratoires d'analyses, véhicules de transports sanitaires, services de secours, services de maintien de l'ordre, cellules de crises, administrations prioritaires, industrie fabricant, transportant les traitements antibiotiques, usines de production d'eau potable, services liés à la communication (téléphone, radio FM type France-info...) ...
- **Priorité 2** : gares, métro, aéroports, administrations, industries...
- **Priorité 3** : zones/locaux pouvant rester fermés plusieurs mois voire années avant décontamination, zones pour lesquelles l'organisation de la mise en œuvre de la décontamination sera à la charge du gestionnaire, de l'entrepreneur privé (industries, bureaux, lieu de cultes, lieux de spectacles...), aéronefs, bateaux...

Annexes 4 à 7

GUIDES D'INVESTIGATION EPIDEMIOLOGIQUE DE L'INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

- Botulisme : annexe 4
- Ricine : annexe 5
- Saxitoxine : annexe 6
- Enterotoxine B Staphylococcique : annexe 7

La ricine est une toxine à activité intracellulaire extraite des graines du ricin. C'est une lectine constituée de deux polypeptides (RTA et RTB) reliés par un pont disulfure. RTA est le siège de l'activité N-glycosidase ciblant l'ARN 28S des ribosomes ; RTB est la partie responsable de la liaison de la toxine aux résidus galactose ou N-acetylgalactosamine de la surface cellulaire. La toxine est endocytosée puis RTA est retro-transporté jusque dans la lumière du réticulum endoplasmique à partir de laquelle le peptide est transloqué dans le cytoplasme où il inhibe la synthèse protéique en dépurinant l'adénosine 4324 de l'ARN ribosomique 28S. Cette dépurination, irréversible, aboutit à l'inhibition de la synthèse protéique et à la mort des cellules intoxiquées (Audi et al., 2005). En outre, la ricine semble interférer avec le mécanisme de réparation de l'ADN et induire l'apoptose des cellules. RTB seule pourrait être responsable de cet effet (Stirpe and Battelli, 2006).

La ricine est extrêmement toxique par inhalation ou injection. Les doses létales chez la souris sont respectivement $DL_{50} = 3-5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ et $5-10 \mu\text{g.kg}^{-1}$. L'ingestion est environ 1000 fois moins toxique que l'inhalation ($DL_{50} = 30 \text{mg.kg}^{-1}$) (Pratt et al., 2007). Chez l'homme la dose létale par ingestion est estimée être de l'ordre de 1 à 20 mg.kg^{-1} (Audi et al., 2005).

La toxine ne traverse pas les téguments sains. L'aérosolisation est donc la technique la plus efficace à mettre en oeuvre dans le cadre d'une action bioterroriste. Sous forme d'aérosol ou de poussières, les yeux peuvent également constituer une voie d'entrée (Strocchi et al., 2005).

Selon le mode de contamination, les premiers symptômes apparaissent dans les minutes ou les quelques heures suivant la contamination. La mort survient entre 36 et 72 heures selon le mode d'intoxication et la quantité absorbée.

Il n'existe pas aujourd'hui de traitement thérapeutique spécifique dans le cas d'une intoxication à la ricine. Le traitement est donc essentiellement symptomatique. Les recherches actuelles portent sur l'immunisation passive (sérothérapie) ou l'identification et la mise au point de molécules inhibitrices. Aucun traitement mettant en jeu des inhibiteurs de la ricine n'est au point aujourd'hui.

1. immunisation passive

L'immunisation passive consiste à injecter des anticorps dirigés contre la Ricine. Ces anticorps neutralisent alors la toxine circulante. Ils interfèrent dans la liaison de la toxine à son récepteur à la surface des cellules, perturbent le trafic intracellulaire et les changements de conformation de la toxine après son internalisation, ou encore inhibent son activité enzymatique. Cependant, la sérothérapie est inefficace contre la toxine déjà internalisée par des cellules au moment du traitement. Une administration la plus précoce possible est donc requise.

Des anticorps monoclonaux dirigés contre RTB inhibent la reconnaissance du récepteur et l'internalisation de la toxine. Des anticorps dirigés contre RTA neutralisent également la toxine (Lemley and Wright, 1992), mais le mécanisme de cette neutralisation n'est pas complètement compris. La liaison au récepteur semble également inhibée dans certains cas (McGuinness and Mantis, 2006). Curieusement, Maddaloni *et al.* (2004) montrent que des anticorps dirigés contre RTA neutralisent plus efficacement la toxine que les anticorps dirigés contre RTB.

Enfin, certains anticorps potentialisent la toxine *in vitro* et *in vivo* (Colombatti *et al.*, 1986; Keener *et al.*, 2006; Maddaloni *et al.*, 2004).

De nombreuses études font cas de l'obtention d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux de chèvre ou de souris ayant une activité de neutralisation *in vitro*, sur l'activité enzymatique de la ricine ou sur des cellules en culture (McGuinness and Mantis, 2006; Wang *et al.*, 2007), ou *in vivo*, chez la souris ou le rat. *In vivo*, la plupart des préparations d'anticorps neutralisants a été testée par pré-incubation avec la toxine ou prétraitement des animaux, avant application de la toxine (Colombatti *et al.*, 1987; Furukawa-Stoffer *et al.*, 1999; Hewetson *et al.*, 1993; Lemley and Wright, 1992; Maddaloni *et al.*, 2004). Chez l'animal, les immunoglobulines sont administrées par voie intraveineuse, la toxine par voie intraveineuse également ou aérosol. Si ces expérimentations démontrent le caractère neutralisant des anticorps étudiés, elles ne permettent pas de déterminer leur efficacité dans le cadre d'une thérapie ni la fenêtre thérapeutique dans laquelle s'inscrit la sérothérapie.

Quelques études décrivent des tests de protection après intoxication, utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux:

Selon Foxwell *et al.*, (1985) la fenêtre thérapeutique pour protéger des souris intoxiquées par 1µg de ricine à l'aide d'une injection de 100 µg d'anticorps est de 40 min dans le cas d'une injection de toxine *i.v.* et de 10h40 dans le cas d'une injection de toxine sous-cutanée.

Chanh *et al.* 1993, injection intrapéritonéale des anticorps avant et après injection de ricine.

Beifen (2006) décrit un anticorps monoclonal de souris reconnaissant les deux sous unités de la ricine et neutralisant efficacement celle-ci injectée par voie *i.p.*, mais 30 minutes seulement avant l'anticorps !

Poli *et al.* (1996) ont testé le pouvoir neutralisant d'IgG polyclonales immunopurifiées administrées par les voies aériennes après intoxication par la ricine vectorisée par aérosol. Vingt quatre µg ou 54 µg d'IgG assurent la protection de souris contre une dose moyenne estimée de ricine inhalées de 27,5 µg/Kg (0,74 µg par souris). L'immunothérapie par aérosolisation d'anticorps neutralisants semble donc une piste intéressante à explorer.

Pratt *et al.* (2008) ont obtenu un taux de survie chez la souris de 100% par administration oropharyngée d'anticorps polyclonaux dirigés contre RTA 18 heures après l'intoxication. Le taux de survie chute à 30% 24 heures après l'intoxication. En utilisant un anticorps monoclonal, le taux de protection n'est que de 50 à 60% pour un traitement intervenant entre 18 et 24 heures après l'intoxication (Pratt *et al.*, 2007). Ces résultats se rapprochent de ceux évoqués par le RDDC. Les auteurs espèrent améliorer cette protection en mettant au point des mélanges d'anticorps monoclonaux, les mélanges ayant un effet synergique dans le cadre d'expériences de cytotoxicité (McGuinness and Mantis, 2006). Néanmoins, ces synergies ne sont pas systématiques et dépendent fortement des combinaisons d'anticorps monoclonaux .

L'utilisation d'un anticorps monoclonal ou d'un mélange d'anticorps monoclonaux neutralisant en thérapie humaine nécessite une humanisation ou tout au moins une chimérisation de ces anticorps afin de réduire leur immunogénicité et les risques de maladie sérique. Wang *et al.* (2007) ont sélectionné un hybridome exprimant un anticorps monoclonal (4C3) de souris neutralisant la ricine 20 à 30 minutes après intoxication par voie *i.p.* (Guo *et al.*, 2006). Un anticorps chimère constitué des régions constantes d'une IgG humaine et des régions variables de 4C3 reste capable d'inhiber la ricine dans un test de cytotoxicité (Wang *et al.*, 2007), bien que moins affin que l'anticorps d'origine.

En conclusion, la sérothérapie présente une certaine efficacité contre une intoxication par la ricine. Cependant, la fenêtre thérapeutique est limitée du fait de la rapidité de la liaison de la ricine à ses récepteurs. Cette fenêtre est de quelques minutes à 30 heures selon la dose de toxine et la voie d'entrée. La protection chute significativement au-delà de 16 heures. Elle est plus faible dans le cas de l'emploi d'un anticorps monoclonal unique, des mélanges oligoclonaux étant nécessaires.

Les études toxicocinétiques montrent que la toxine agit prioritairement à son lieu d'inoculation; relativement peu de ricine passe dans la circulation générale après intoxication, que ce soit par aérosol (Doebler *et al.*, 1995) ou par ingestion (Ishiguro *et al.*, 1983). Trente heures après contamination par aérosol, 78% de la ricine inhalée est encore détectée au niveau des poumons. Le reste se retrouve essentiellement au niveau du foie ou de la rate qui présentent de nombreuses cellules du système réticulo endothélial, riches en résidus galactose à leur surface (Doebler *et al.*, 1995).

L'administration des anticorps semble donc plus pertinente au site de contamination. L'inhalation provoque la nécrose des cellules du tractus oropharyngé et des poumons, entraînant un oedème pulmonaire fatal (Audi *et al.*, 2005) et une nécrose hémorragique. La nébulisation d'anticorps neutralisants semble donc le plus adéquat dans ce cas. L'injection parentérale d'anticorps polyclonaux peut protéger contre la mort mais pas contre les lésions pulmonaires caractéristiques (Poli *et al.*, 1996).

En cas d'ingestion chez le rat, seulement 0,015% de la toxine se retrouve dans le sang. Vingt à 45% de la ricine ingérée se retrouve dans les selles (Audi *et al.*, 2005). La ricine agit alors en premier lieu sur la muqueuse intestinale et entraîne disparition des villosités intestinale, œdème, nécrose hémorragique. Il n'existe pas à notre connaissance d'étude de protection contre la ricine par administration d'anticorps protecteurs *per os*.

Enfin, il faut tenir compte de la clairance des anticorps selon le site d'administration pour déterminer la fenêtre thérapeutique et les doses d'anticorps à injecter. Il est préférable de mettre au point un mélange de plusieurs anticorps monoclonaux chimérisés ou humanisés plutôt qu'une fraction d'immunoglobulines sériques pour garantir une spécificité constante, une meilleure efficacité et une meilleure tolérance.

Au Canada, les sociétés Twinstrand Therapeutics et Cangene Corporation travaillent avec le RDDC (R&D pour la Défense Canada, agence du Ministère de la Défense Nationale) au développement d'une anatoxine et à la production d'anticorps anti-ricine. Leurs premiers résultats montrent une survie de 40% des souris si l'anticorps est administré entre 1 et 16 heures après intoxication. Les modes d'intoxication et de traitement ne sont pas documentés (http://www.dres.dnd.ca/ResearchTech/Products/CB_PRODUCTS/RD2004-04_RICIN/index_f.html)).

2. Inhibiteurs

En matière de recherche d'inhibiteurs de la ricine, les techniques actuelles consistent à cribler des chimiothèques ricine dans des tests cellulaires. Une autre stratégie est la synthèse, sur la base d'outil de modélisation moléculaire, i) de carbohydrates pour empêcher la liaison de la toxine à la surface des cellules ; ii) d'analogues inhibiteurs d'état de transition visant à bloquer RTA, ou de petites molécules, notamment des analogues nucléotidiques, pouvant s'intégrer dans le site actif. Aucune des recherches en cours n'a pour l'instant abouti à l'identification d'un inhibiteur satisfaisant.

Les inhibiteurs doivent répondre aux critères d'innocuité, de bio-disponibilité et de spécificité. Ils peuvent intervenir en inhibant l'activité enzymatique de la ricine, la reconnaissance de son récepteur ou en interférant avec son trafic intracellulaire.

2-1 Inhibiteurs de liaison.

RTB est décrite comme une lectine qui se lie, à la surface des cellules, aux glycoprotéines et glycolipides présentant des résidus galactoses. Les hydrates de carbone dérivés du galactose et du lactose sont considérés comme des antitoxines potentiels. Ils remplissent les critères d'innocuité et de spécificité cités plus haut. Des équipes travaillent à construire des analogues de galactose ou lactose à haute affinité pour RTB (Dawson et al., 2006; Rivera-Sagredo et al., 1991).

Strocchi et al. (2005) ont montré que la muqueuse oculaire pouvait constituer une voie d'entrée pour la ricine (chez le lapin). En contact avec les yeux, la ricine affecte la conjonctive et provoque des lésions inflammatoires et nécrotiques. Les auteurs montrent que le rinçage immédiat des yeux avec une solution de lactose permet de limiter les effets de l'intoxication mais pas de les supprimer. La ricine se fixe donc extrêmement rapidement à ses récepteurs sur la muqueuse oculaire : Un rinçage au lactose intervenant 5 minutes après l'intoxication est nettement moins efficace.

Cette publication montre les limites de l'utilisation de leures dérivés d'hydrates de carbone dans une perspective thérapeutique : le traitement doit être quasiment immédiat. L'efficacité du lactose au sein de l'organisme est sujette à caution : chez la souris, l'injection en *iv* de lactose à 100 mM ne protège pas des effets de 136 ng de ricine co-injectée (Colombatti et al., 1987). Des données personnelles (J. Barbier-D. Gillet, iBiTec-S, CEA Saclay) obtenues à l'aide d'un test de cytotoxicité sur une lignée épithéliale pulmonaire humaine montre que 20 mM de lactose administrés avant la toxine diminue sa toxicité d'un facteur 70 environ.

La rapide dissémination de la toxine et la faible quantité de toxine circulante remet en cause l'utilité de ce mode de traitement. Il semble donc que le seul intérêt de cette stratégie réside dans la décontamination des muqueuses (intestinales, oropharyngées et pulmonaires) potentiellement contaminées avec la toxine et ce dans un délai extrêmement court.

2-2 Inhibiteurs de l'activité enzymatique

RTA est une N-glycosidase hautement spécifique qui catalyse l'hydrolyse d'une adénine au sein d'une boucle GAGA de l'ARNr 28s. Plusieurs types d'inhibiteurs de l'activité de RTA ont fait l'objet de publications :

→ Inhibiteurs d'état de transition. L'élucidation du mécanisme d'action de RTA a permis la mise au point par le laboratoire de Vern L. Schramm de nombreuses molécules oligonucléotidiques, ADN, ARN, hybrides ADN/ARN, ou ADN circulaires reconstituant la boucle de l'ARN 28s au sein de laquelle l'adénine cible est substituée. Le meilleur K_i obtenu pour un oligonucléotide est de 26 nM (hybride ADN/ARN (Roday et al., 2004)) et de 70 nM pour un ADN circulaire (Sturm et al., 2007). Cependant, il faut noter que ces données ont été obtenues lors d'études enzymatiques et qu'aucune donnée issue d'expérimentation *in vivo* n'a été publiée concernant l'utilisation de ces composés chez des mammifères intoxiqués par la ricine.

Analogues nucléotidiques. La modélisation assistée par ordinateur permet de sélectionner *in silico* les molécules les plus complémentaires du site actif. L'acide ptéroïque et la 8-Methyl-9-oxoguanine ont ainsi été identifiés comme des candidats potentiels dans la recherche d'inhibiteurs de la ricine (Miller et al., 2002; Yan et al., 1997). Les IC_{50} relativement élevées obtenues pour ces composés (respectivement de 0,6 mM et 0,4 mM), indiquant un pouvoir inhibiteur très médiocre, ont été évaluées uniquement par des tests *in vitro* sur RTA recombinant.

L'acide ptéroïque a été testé à l'iBiTec-S au CEA de Saclay sur cellules épithéliales pulmonaires humaines (A549). Aucune d'inhibition significative de la toxicité de la ricine n'a été observée. De plus, ce composé est relativement peu soluble.

Aptamères. Les aptamères sont des molécules oligonucléotidiques ou peptidiques qui ont la capacité de se lier spécifiquement à une molécule cible. Des aptamères ribonucléotidiques ont été identifiés comme inhibiteurs de RTA (Hesselberth et al., 2000). A la différence des inhibiteurs de l'état de transition, ces molécules ne présentent pas de similarité structurale avec la boucle GAGA de l'ARN 28s. Elles se lient au site actif de RTA et ne sont pas dépurinées. Un aptamère ribonucléique de 31 résidus a été isolé par Hesselberth et al. (2000) ; il se caractérise par une IC₅₀ de 100 nM, *in vitro*. Là encore, aucune étude *in vivo* ne vient valider l'utilisation d'aptamère dans le traitement de l'intoxication à la ricine.

2-3 Inhibiteurs du trafic intracellulaire

RTA est transportée de manière rétrograde des vésicules d'endocytose au réticulum endoplasmique. Des cribles génétiques pour la résistance à différentes toxines à activité intracellulaire ont permis d'identifier les gènes impliqués dans les différentes voies d'internalisation de celles-ci. Zhao et Haslam (2005) ont mis au point une méthode de dosage sur cellules VERO permettant le crible des 14400 molécules de la chimiothèque ChemDiv 3 de l'ICCB (Harvard) pour la persistance de la synthèse protéique en présence de ricine (Saenz et al., 2007; Zhao and Haslam, 2005). Deux molécules ont été isolées. Elles semblent inhiber des étapes distinctes du rétrotransport de la ricine.

Ces molécules n'ont pas d'activité inhibitrice dans un test de cytotoxicité sur cellules épithéliales pulmonaires humaines (A549) (J. Barbier et D. Gillet, données personnelles).

Quatre composés inhibiteurs ont été isolés à l'iBiTec-S au CEA-Saclay, lors du crible de 22000 composés et 8000 extraits naturels provenant de 4 chimiothèques. Ces composés semblent agir sur les voies de trafic intracellulaire de la toxine. Des essais chez l'animal sont en cours à l'AFSSAPS.

2-4 Autres inhibiteurs

Une collection de molécules, inhibiteurs potentiels de l'activité catalytique, décrites dans la littérature comme ayant une activité inhibitrice *in vivo* ou *in vitro*, ont été testées à l'iBiTec-S au CEA-Saclay dans un test de cytotoxicité sur cellules épithéliales pulmonaires humaines (A549): dexaméthasone, acide ptéroïque, difluorométhylornithine, AZT, 3TC, ddI, ddC, d4T, ribavirine, methotrexate et diazepam. Aucune de ces molécules n'a d'activité protectrice significative.

Conclusion

Pour l'instant aucun inhibiteur efficace *in vivo* n'a donc été décrit. Par ailleurs, si l'arrêt de la synthèse protéique est sans doute l'aspect majeur de la toxicité de la ricine, l'apoptose et les réactions inflammatoires observées lors de l'intoxication pourraient aussi être le fait de la cascade de transduction déclenchée par la fixation de RTB à la surface des cellules. Des inhibiteurs de l'activité enzymatique de RTA pourraient donc trouver là leur limite.

Références

- Audi, J., Belson, M., Patel, M., Schier, J. and Osterloh, J. (2005) Ricin poisoning: a comprehensive review. *Jama*, 294, 2342-2351.
- Colombatti, M., Johnson, V.G., Skopicki, H.A., Fendley, B., Lewis, M.S. and Youle, R.J. (1987) Identification and characterization of a monoclonal antibody recognizing a galactose-binding domain of the toxin ricin. *J Immunol*, 138, 3339-3344.
- Colombatti, M., Pezzini, A. and Colombatti, A. (1986) Monoclonal antibodies against ricin: effects on toxin function. *Hybridoma*, 5, 9-19.
- Dawson, R.M., Alderton, M.R., Wells, D. and Hartley, P.G. (2006) Monovalent and polyvalent carbohydrate inhibitors of ricin binding to a model of the cell-surface receptor. *J Appl Toxicol*, 26, 247-252.

- Doebler, J.A., Wiltshire, N.D., Mayer, T.W., Estep, J.E., Moeller, R.B., Traub, R.K., Broomfield, C.A., Calamaio, C.A., Thompson, W.L. and Pitt, M.L. (1995) The distribution of [125I]ricin in mice following aerosol inhalation exposure. *Toxicology*, 98, 137-149.
- Foxwell, B.M., Detre, S.I., Donovan, T.A. and Thorpe, P.E. (1985) The use of anti-ricin antibodies to protect mice intoxicated with ricin. *Toxicology*, 34, 79-88.
- Furukawa-Stoffer, T.L., Mah, D.C., Cherwonogrodzky, J.W. and Weselake, R.J. (1999) A novel biological-based assay for the screening of neutralizing antibodies to ricin. *Hybridoma*, 18, 505-511.
- Guo, J., Shen, B., Sun, Y., Yu, M. and Hu, M. (2006) A novel neutralizing monoclonal antibody against both ricin toxin A and ricin toxin B, and application of a rapid sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Hybridoma (Larchmt)*, 25, 225-229.
- Hesselberth, J., Robertson, M.P., Jhaveri, S. and Ellington, A.D. (2000) In vitro selection of nucleic acids for diagnostic applications. *J Biotechnol*, 74, 15-25.
- Hewetson, J.F., Rivera, V.R., Creasia, D.A., Lemley, P.V., Rippey, M.K. and Poli, M.A. (1993) Protection of mice from inhaled ricin by vaccination with ricin or by passive treatment with heterologous antibody. *Vaccine*, 11, 743-746.
- Ishiguro, M., Mitarai, M., Harada, H., Sekine, I., Nishimori, I. and Kikutani, M. (1983) Biochemical studies on oral toxicity of ricin. I. Ricin administered orally can impair sugar absorption by rat small intestine. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 31, 3222-3227.
- Keener, W.K., Rivera, V.R., Young, C.C. and Poli, M.A. (2006) An activity-dependent assay for ricin and related RNA N-glycosidases based on electrochemiluminescence. *Anal Biochem*, 357, 200-207.
- Lemley, P.V. and Wright, D.C. (1992) Mice are actively immunized after passive monoclonal antibody prophylaxis and ricin toxin challenge. *Immunology*, 76, 511-513.
- Maddaloni, M., Cooke, C., Wilkinson, R., Stout, A.V., Eng, L. and Pincus, S.H. (2004) Immunological characteristics associated with the protective efficacy of antibodies to ricin. *J Immunol*, 172, 6221-6228.
- McGuinness, C.R. and Mantis, N.J. (2006) Characterization of a novel high-affinity monoclonal immunoglobulin G antibody against the ricin B subunit. *Infect Immun*, 74, 3463-3470.
- Miller, D.J., Ravikumar, K., Shen, H., Suh, J.K., Kerwin, S.M. and Robertus, J.D. (2002) Structure-based design and characterization of novel platforms for ricin and shiga toxin inhibition. *J Med Chem*, 45, 90-98.
- Poli, M.A., Rivera, V.R., Pitt, M.L. and Vogel, P. (1996) Aerosolized specific antibody protects mice from lung injury associated with aerosolized ricin exposure. *Toxicon*, 34, 1037-1044.
- Pratt, T.S., Pincus, S.H., Hale, M.L., Moreira, A.L., Roy, C.J. and Tchou-Wong, K.M. (2007) Oropharyngeal aspiration of ricin as a lung challenge model for evaluation of the therapeutic index of antibodies against ricin A-chain for post-exposure treatment. *Exp Lung Res*, 33, 459-481.
- Rivera-Sagredo, A., Solis, D., Diaz-Maurino, T., Jimenez-Barbero, J. and Martin-Lomas, M. (1991) Studies on the molecular recognition of synthetic methyl beta-lactoside analogs by ricin, a cytotoxic plant lectin. *Eur J Biochem*, 197, 217-228.
- Roday, S., Amukele, T., Evans, G.B., Tyler, P.C., Furneaux, R.H. and Schramm, V.L. (2004) Inhibition of ricin A-chain with pyrrolidine mimics of the oxacarbenium ion transition state. *Biochemistry*, 43, 4923-4933.
- Saenz, J.B., Doggett, T.A. and Haslam, D.B. (2007) Identification and characterization of small molecules that inhibit intracellular toxin transport. *Infect Immun*, 75, 4552-4561.
- Stirpe, F. and Battelli, M.G. (2006) Ribosome-inactivating proteins: progress and problems. *Cell Mol Life Sci*, 63, 1850-1866.
- Strocchi, P., Dozza, B., Pecorella, I., Fresina, M., Campos, E. and Stirpe, F. (2005) Lesions caused by ricin applied to rabbit eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 46, 1113-1116.
- Sturm, M.B., Roday, S. and Schramm, V.L. (2007) Circular DNA and DNA/RNA hybrid molecules as scaffolds for ricin inhibitor design. *J Am Chem Soc*, 129, 5544-5550.

- Wang, Y., Guo, L., Zhao, K., Chen, J., Feng, J., Sun, Y., Li, Y. and Shen, B. (2007) Novel chimeric anti-ricin antibody C4C13 with neutralizing activity against ricin toxicity. *Biotechnol Lett*, 29, 1811-1816.
- Yan, X., Hollis, T., Svinth, M., Day, P., Monzingo, A.F., Milne, G.W. and Robertus, J.D. (1997) Structure-based identification of a ricin inhibitor. *J Mol Biol*, 266, 1043-1049.
- Zhao, L. and Haslam, D.B. (2005) A quantitative and highly sensitive luciferase-based assay for bacterial toxins that inhibit protein synthesis. *J Med Microbiol*, 54, 1023-1030.